

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
LUMA WOSCH

**ESTUDO COMPARATIVO DO PERFIL MORFOANATÔMICO E CROMATOGRÁFICO
DE FOLHAS DE *Passiflora* L., PASSIFLORACEAE**



CURITIBA
2015

LUMA WOSCH

**ESTUDO COMPARATIVO DO PERFIL MORFOANATÔMICO E CROMATOGRÁFICO
DE FOLHAS DE *Passiflora* L., PASSIFLORACEAE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador:
Prof. Tit. Cid Aimbiré de Moraes Santos
Co-orientadora:
Prof. Dr. Jane Manfron Budel

**CURITIBA
2015**

À Deus, por ser a fonte da vida,
de toda a força e misericórdia.

Epígrafe

"A cada día que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca, e que esquivando-nos do sofrimento, perdemos também a felicidade."

Carlos Drummond de Andrade

Agradecimentos

- À Deus, por me ter concedido o maior de todos os dons, a vida, e, além disso, saúde e bênçãos incontáveis.
- À minha mãe, Édna, por tudo o que sou e ainda serei, pelo apoio incondicional, confiança e amor sem medidas.
- À minha irmã, Luana, por acreditar em mim, pelo seu amor e pelo meu mais novo presente, a afilhada Giovana.
- Ao meu noivo, Wilker, pela compreensão em todos os momentos, por se alegrar com as minhas conquistas, por estar ao meu lado e por apoiar essa etapa da minha vida.
- Ao professor e orientador Cid A. M. Santos, por todas as muitas oportunidades concedidas e por ter acreditado e confiado em mim desde o início. Pelo exemplo de amor e dedicação ao trabalho, ao ensino e à pesquisa. Pela amizade, compreensão e conselhos. Enfim, pelo exemplo de vida.
- À professora Jane Manfron Budel pelo entusiasmo e dedicação simplesmente contagiantes. Pela orientação e pelas palavras de incentivo e apoio durante todo o meu trabalho.
- À professora Bárbara Baêso Moura, por ter prontamente aceitado me orientar em uma área nova para mim, na confecção de cortes, lâminas e fotos. Pelo interesse em meu trabalho e por estar sempre disposta a ajudar.
- Ao professor Armando Carlos Cervi (*in memoriam*) que aceitou nos auxiliar com seu vasto conhecimento sobre as passifloras por meio de sua aluna, Daniela Cristina Imig. À Daniela, especialmente, pelas muitas coletas, identificações, pelo tempo dedicado à mim e ao meu trabalho e por todo o carinho e amizade.
- Aos colegas e amigos de laboratório, Cristiane e Michel, por todos os momentos compartilhados ao longo desses dois anos. Por estarem dispostos a ajudar em qualquer circunstância. Por vestirem suas botas de guerra e partirem em viagem para coletar amostras para o meu trabalho. Pelo apoio técnico, opiniões científicas, pelas muitas risadas e churrascos compartilhados. A amizade de vocês vale mais que ouro!
- À Kely C. Santos e Cláudia Seidl, por estarem presentes sempre de forma amiga ao longo de todos os meus anos de farmacognosia. Pelos ensinamentos, conselhos, apoio e incentivo em todos os momentos.
- Às professoras Cleusa Bona e Érika Amano, por permitirem que eu realizasse parte do meu trabalho no laboratório de Botânica Estrutural. Ao funcionário Nilson, pelo precioso auxílio técnico, pela amizade, por compartilhar ideias e pensamentos e por se importar comigo e com o meu trabalho. Às colegas Amanda, Pollyana e Vanessa pelo auxílio prestado durante minha passagem pelo laboratório de Botânica.
- Ao amigo Jonathan, disposto a prestar auxílio técnico em informática em qualquer dia da semana, hora do dia ou da noite.
- À colega Thaciane, da UFRN, por possibilitar que a espécie *P. cincinnata* fosse incluída neste trabalho.
- À professora Vera Lúcia, pelas lindas imagens em MEV, por aceitar que eu a acompanhasse durante as análises e pelos ensinamentos e amizade nesse período.
- À técnica do laboratório de Farmacognosia, D. Maria do Rocio Baldon Reis, por todo o auxílio.

Meu muito obrigada!

RESUMO

Determinar a autenticidade e a qualidade de matérias-primas vegetais utilizadas na formulação de medicamentos fitoterápicos, chás e cosméticos é essencial no sentido de garantir sua segurança e eficácia para o uso clínico. Algumas espécies de *Passiflora* são oficiais em compêndios farmacêuticos de vários países e possuem uso terapêutico principalmente como sedativas e tranquilizantes. O grande número de espécies do gênero (cerca de 600), aliado ao fato da maioria ser popularmente conhecida como maracujá, aumenta a probabilidade de erros de identificação da parte usada como droga vegetal (folhas dessecadas de *Passiflora* sp., Passifloraceae). Dessa forma, o objetivo do trabalho foi realizar a comparação farmacognóstica de espécies de *Passiflora*, a fim de estabelecer um perfil morfoanatômico e cromatográfico que contribua com o controle de qualidade da droga na produção fitoterápicos contendo maracujá. Para isso, folhas de doze espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* (*P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia*, *P. coccinea* e *P. setacea*) mais três híbridos de *P. coccinea* e *P. setacea*, foram coletadas em diferentes localidades e analisadas quanto a seus caracteres morfoanatômicos por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura e quanto a seus perfis cromatográficos por meio de duas metodologias por cromatografia em camada delgada e uma por cromatografia à líquido de alta eficiência, utilizando como padrões os flavonoides C-glicosilados isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina. A análise microscópica permitiu o estabelecimento de um conjunto de caracteres que auxiliam na diferenciação entre as espécies analisadas, entre eles encontram-se o formato da nervura central e do pecíolo, arranjo dos feixes vasculares na nervura central e no pecíolo, formato das nervuras de médio porte, presença/ausência de tricomas tectores e sua descrição, presença de papilas na face abaxial da epiderme e características das células esclerenquimáticas presentes no limbo foliar. No que diz respeito às análises cromatográficas, as metodologias empregadas, simples, foram eficientes em estabelecer perfis específicos para cada espécie. Tanto a análise microscópica, quanto as análises cromatográficas propostas podem ser utilizadas isoladamente ou em conjunto com o objetivo de determinar a autenticidade e qualidade de drogas vegetais oriundas de espécies do gênero *Passiflora*.

ABSTRACT

Determining the authenticity and quality of plant raw materials used in the formulation of herbal medicines, teas and cosmetics, is essential to ensure their safety and efficacy for clinical use. Some *Passiflora* species are officially recognized in pharmaceutical compendia of various countries and have therapeutic use, particularly as sedative and tranquilizer. However, the large number of *Passiflora* species, coupled with the fact that most species are popularly known as passion fruit, increases the misidentification problem. Thus, the purpose of this study is to make a pharmacognostic comparison between various *Passiflora* species to establish a morpho-anatomical and chromatographic profile that could contribute to the quality control of herbal drug products that contain passion fruit. The comparison was conducted by collecting samples from twelve *Passiflora* species (*P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia*, *P. coccinea* and *P. setacea*) and three hybrids of *P. coccinea* and *P. setacea* from different locations and their morpho-anatomical features were analysed using optical microscopy and scanning electron microscopy. Their chromatographic profiles were obtained by two methods - thin layer chromatography and high-efficiency liquid chromatography, using the flavonoid C-glycosides isoorientin, orientin, vitexin and isovitexin as reference compounds. A microscopic analysis allowed a set of characters to be established that can help to differentiate between species. These include midrib and petiole shape, midrib and petiole vascular pattern, medium vein shape, presence/absence of trichomes (in our description), the presence of papillae on the abaxial epidermis and sclerenchymatic cells adjoining the vascular bundle. With regard to the chromatographic analysis, a simple methodology was employed, which was effective in establishing specific profiles for each species. Both the microscopic and chromatographic analyses discussed here, could be used either alone or together to assist in the determination of herbal drug quality and authenticity derived from a species of *Passiflora*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto morfológico de <i>P. incarnata</i> . a. hábito; b. detalhe da flor.	5
Figura 2. CCD das espécies <i>P. actinia</i> Hooker (ACT), <i>P. alata</i> Curtis (ALA), <i>P. amethystina</i> Mikan (AME), <i>P. caerulea</i> L. (CAE), <i>P. capsularis</i> L. (CAP), <i>P. edulis</i> Sims var. <i>flavicarpa</i> (EDU), <i>P. elegans</i> Masters (ELE), <i>P. foetida</i> L. (FOE), <i>P. misera</i> H.B.K. (MIS), <i>P. morifolia</i> Masters (MOR), <i>P. organensis</i> Gardner (ORG), <i>P. suberosa</i> L. (SUB), <i>P. tenuifolia</i> Killip (TEN), <i>P. urnifolia</i> Rusby (URN). Substância de referência: vitexina	16
Figura 3. Folhas, aspecto morfológico externo. Faces adaxiais..	39
Figura 4. Epidermes foliares em vista frontal. Faces adaxiais..	45
Figura 5. Epidermes foliares em vista frontal. Faces abaxiais..	47
Figura 6. Tricomas tectores.	48
Figura 7. Tricomas tectores.	49
Figura 8. Espécies glabras comparadas à <i>P. setacea</i>	50
Figura 9. <i>P. edulis</i> , diferença entre tricomas.	51
Figura 10. Limbos foliares em secção transversal.	55
Figura 11. <i>Passiflora capsularis</i> . Limbo foliar. Diferenças de espessura do limbo foliar e do parênquima paliádico..	56
Figura 12. Limbos foliares em secção transversal, nervuras de médio porte..	58
Figura 13. Nervuras centrais em secção transversal.	63
Figura 14. Pecíolos em secção transversal..	68
Figura 15. Microscopia do pó.	70
Figura 16. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 1.1-1.3 (<i>P. actinia</i>), 2.1-2.5 (<i>P. alata</i>), 3.1-3.2 (<i>P. amethystina</i>) e do padrão isovitexina.	77
Figura 17. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 3.3 (<i>P. amethystina</i>), 4.1-4.4 (<i>P. capsularis</i>), 5 (<i>P. cincinnata</i>), 6.1-6.4 (<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>) e do padrão vitexina.	77
Figura 18. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 7.1-7.2 (<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>), 8.1-8.3 (<i>P. incarnata</i>), 9.1-9.3 (<i>P. morifolia</i>), 10.1-10.2 (<i>P. urnifolia</i>) e do padrão isoorientina.	78
Figura 19. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 10.3 (<i>P. urnifolia</i>), 11 (<i>P. coccinea</i>), 12 (<i>P. setacea</i>), 13-15 (híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora, respectivamente) e do padrão orientina.	78
Figura 20. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 1.1-1.3 (<i>P. actinia</i>), 2.1-2.5 (<i>P. alata</i>), 3.1-3.2 (<i>P. amethystina</i>) e do padrão isovitexina.	82
Figura 21. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 3.3 (<i>P. amethystina</i>), 4.1-4.4 (<i>P. capsularis</i>), 5 (<i>P. cincinnata</i>), 6.1-6.4 (<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>) e do padrão vitexina.	82
Figura 22. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 7.1-7.2 (<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>), 8.1-8.3 (<i>P. incarnata</i>), 9.1-9.3 (<i>P. morifolia</i>), 10.1-10.2 (<i>P. urnifolia</i>) e do padrão isoorientina.	83
Figura 23. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 10.3 (<i>P. urnifolia</i>), 11 (<i>P. coccinea</i>), 12 (<i>P. setacea</i>), 13-15 (híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora, respectivamente) e do padrão orientina.	83
Figura 24. Comparação entre as os extratos hidroalcoólicos das folhas das espécies de <i>Passiflora</i> por CCD. Sistema eluente 1.	84
Figura 25. Comparação entre as os extratos hidroalcoólicos das folhas das espécies de <i>Passiflora</i> por CCD. Sistema eluente 2.	85
Figura 26. Sobreposição dos cromatogramas obtidos por CLAE-DAD para as amostras estudadas de <i>P. actinia</i> , <i>P. alata</i> , <i>P. amethystina</i> , <i>P. capsularis</i> , <i>P. cincinnata</i> comparada a <i>P. incarnata</i> e <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	87

Figura 27. Sobreposição dos cromatogramas obtidos por CLAE-DAD para as amostras estudadas de <i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> , <i>P. incarnata</i> , <i>P. morifolia</i> , <i>P. urnifolia</i> , <i>P. coccinea</i> comparada à <i>P. setacea</i> e para os híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora.	88
Figura 28. Cromatogramas dos padrões de isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina.....	89
Figura 29. Perfil cromatográfico apresentado pela mistura dos padrões isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina.	89
Figura 30. Comparação entre os diferentes perfis cromatográficos obtidos por CLAE-DAD para as espécies <i>P. actinia</i> , <i>P. alata</i> (representados pelas amostras 2.1 e 2.2), <i>P. amethystina</i> , <i>P. capsularis</i> , <i>P. cincinnata</i> , <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (6.2 e 6.1) e <i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> (7.1).	92
Figura 31. Comparação entre os diferentes perfis cromatográficos obtidos por CLAE-DAD para as espécies <i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> (7.2), <i>P. incarnata</i> , <i>P. morifolia</i> , <i>P. urnifolia</i> , <i>P. coccinea</i> , <i>P. setacea</i> e para os híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora..	93
Figura 32. Espectros e máximos de absorção dos padrões isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina em UV.	94
Figura 33. Espectros de absorção no UV obtidos em diferentes regiões do pico 2 (relativo à isoorientina) de <i>P. coccinea</i> , para verificação de pureza.	96
Figura 34. Perfis cromatográficos de <i>P. alata</i> (a) e <i>P. incarnata</i> (b), detecção a 340 nm	106
Figura 35. Cromatograma por CLAE da fração <i>n</i> -BuOH das folhas de <i>P. alata</i> com detecção UV/DAD em $\lambda = 340$ nm	107
Figura 36. Cromatograma do extrato das folhas de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> por CLAE-DAD, método isocrático de eluição dos solventes A (tetrahidrofurano, isopropanol, acetonitrila) e B (ácido fosfórico), detecção 340 nm	109
Figura 37. Cromatograma do extrato das folhas de <i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> por CLAE-DAD, método isocrático de eluição dos solventes A (tetrahidrofurano, isopropanol, acetonitrila) e B (ácido fosfórico), detecção 340 nm	110
Figura 38. Comparação entre o perfil em CLAE-DAD da amostra 4.4 de <i>P. capsularis</i> com a amostra 4.2, representando as demais	111

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Resumo dos dados de coleta das espécies/híbridos de <i>Passiflora</i> estudados, códigos de identificação das exsicatas e Herbários de depósito.....	28
Quadro 2. Caracteres morfológicos externos apresentados pelas espécies/híbridos analisados	36
Quadro 3. Contorno das paredes anticlinais da epiderme das faces adaxial e abaxial apresentado pelas diferentes espécies e híbridos analisados.	40
Quadro 4. Descrição simplificada do formato das nervuras principais de cada espécie e híbridos de <i>Passiflora</i> avaliados.	59
Quadro 5. Descrição simplificada do arranjo dos feixes vasculares das nervuras centrais de cada espécie e híbridos de <i>Passiflora</i> avaliados.	60
Quadro 6. Características das nervuras centrais das espécies e híbridos analisados. Classificação e número de camadas do colênquima e localização das drusas.	61
Quadro 7. Descrição simplificada do formato dos pecíolos de cada espécie e híbridos de <i>Passiflora</i> avaliados.	64
Quadro 8. Descrição do arranjo dos feixes vasculares dos pecíolos de cada espécie e híbridos de <i>Passiflora</i> avaliados.	65
Quadro 9. Características dos pecíolos das espécies e híbridos estudados. Classificação e número de camadas do colênquima e localização das drusas.	66
Quadro 10. Resumo das principais características morfoanatômicas de diferenciação entre as espécies e híbridos estudados.	72
Quadro 11. Síntese dos resultados obtidos com a utilização do sistema eluente 1 em CCD.....	75
Quadro 12. Síntese dos resultados obtidos em CCD com a utilização do sistema eluente 2.....	80
Quadro 13. Padrões atribuídos à determinada espécie/híbrido por CCD, por meio de fator de retenção e coloração, e em CLAE, por meio de coeluição e absorção no UV.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Gradiente de fase móvel usado em CLAE-DAD	33
Tabela 2. Máximos de absorção (nm) exibidos pelos espectros de UV para cada pico apresentado pelas amostras analisadas em CLAE-DAD	95

LISTA DE SIGLAS

BuOH	–	Butanol
CCD	–	Cromatografia em camada delgada
CCDAE	–	Cromatografia em camada delgada de alta eficiência
CLAE	–	Cromatografia a líquido de alta eficiência
CLUE	–	Cromatografia a líquido de ultra eficiência
DAD	–	Detecção por arranjo de diodos
EM	–	Espectrometria de massas
EtOH	–	Etanol
MeOH	–	Metanol
MEV	–	Microscopia eletrônica de varredura
RMN	–	Ressonância magnética nuclear
SNC	–	Sistema nervoso central
UV	–	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 FAMÍLIA Passifloraceae E GÊNERO <i>Passiflora</i>	4
3.2 HISTÓRICO DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	4
3.3 ASPECTOS MORFOLÓGICOS	6
3.3.1 Família Passifloraceae	6
3.3.2 Gênero <i>Passiflora</i>	7
3.3.3 <i>Passiflora actinia</i> Hooker	7
3.3.4 <i>Passiflora alata</i> Curtis	7
3.3.5 <i>Passiflora amethystina</i> J.C. Mikan	8
3.3.6 <i>Passiflora capsularis</i> L.	8
3.3.7 <i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	9
3.3.8 <i>Passiflora edulis</i> Sims.	9
3.3.9 <i>Passiflora incarnata</i> L.	10
3.3.10 <i>Passiflora morifolia</i> Mast.	10
3.3.11 <i>Passiflora urnifolia</i> Rusby	10
3.3.12 <i>Passiflora coccinea</i> Aubl.	10
3.3.13 <i>Passiflora setacea</i> DC.	11
3.4 ASPECTOS MORFOANATÔMICOS	11
3.4.1 Aspectos característicos do gênero <i>Passiflora</i>	11
3.4.2 <i>Passiflora actinia</i> Hook.	11
3.4.3 <i>Passiflora alata</i> Curtis	12
3.4.4 <i>Passiflora capsularis</i> L.	13
3.4.5 <i>Passiflora edulis</i> Sims	13
3.4.6 <i>Passiflora incarnata</i> L.	14
3.5 ESTUDOS COMPARATIVOS	14
3.6 HÍBRIDOS	17
3.7 ETNOFARMACOLOGIA	17
3.8 AÇÕES FARMACOLÓGICAS	18
3.8.1 <i>Passiflora incarnata</i> L.	18
3.8.2 <i>Passiflora actinia</i> Hook.	20
3.8.3 <i>Passiflora alata</i> Curtis	20

3.8.4 <i>Passiflora edulis</i> Sims	21
3.9 CONSTITUINTES QUÍMICOS.....	22
3.9.1 Flavonoides.....	22
3.9.2 Alcaloides	24
3.9.3 Saponinas	25
3.10 A IMPORTÂNCIA DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 MATERIAL BOTÂNICO	27
4.1.1 Coleta	27
4.1.2 Processamento das amostras.....	28
4.2 ESTUDO MORFOANATÔMICO	29
4.2.1 Microscopia de luz	29
4.2.1.1 Secções transversais.....	29
4.2.1.2 Observação paradérmica.....	30
4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	31
4.2.3 Microscopia do pó	31
4.3 ANÁLISE QUÍMICA	32
4.3.1 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	32
4.3.1.1 Extração	32
4.3.1.2 Fase móvel	32
4.3.1.3 Fase estacionária.....	32
4.3.1.4 Condições cromatográficas	32
4.3.1.5 Revelador	32
4.3.1.6 Padrões	33
4.3.2 Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)	33
4.3.2.1 Instrumentação.....	33
4.3.2.2 Condições Cromatográficas.....	33
4.3.2.3 Preparo das amostras.....	34
4.3.2.4 Padrões	34
5. RESULTADOS	35
5.1 ESTUDO MORFOANATÔMICO	35
5.1.1 Análise morfológica externa.....	35
5.1.1 Análise anatômica.....	40
5.1.1.1 Epiderme	40
5.1.1.2 Limbo foliar	52
5.1.1.3 Nervura central	59
5.1.1.4 Pecíolo	64

5.1.2 Análise microscópica do pó.....	69
5.1.3 Principais características de diferenciação	71
5.2 ANÁLISE QUÍMICA	74
5.2.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)	74
5.2.1.1 Sistema eluente 1.....	74
5.2.1.2 Sistema eluente 2.....	78
5.2.1.3 Comparação por CCD entre as espécies de <i>Passiflora</i> estudadas e padrões por meio de dois sistemas eluentes distintos	83
5.2.2 Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)	85
5.2.2.1 Comparação entre os perfis dos exemplares de cada espécie	85
5.2.2.2 Comparação entre as espécies por coinjeção com padrão.....	89
5.2.2.3 Análise espectral dos picos.....	94
6. DISCUSSÃO.....	98
6.1 ANÁLISE MORFOANATÔMICA	98
6.2 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	104
7. CONCLUSÕES	114
8. REFERÊNCIAS	115

1. INTRODUÇÃO

No início do conhecimento médico e farmacêutico organizado, toda a informação existente na cultura ocidental sobre os medicamentos e seu uso era reunida em uma única área do conhecimento, a chamada *Materia Medica*. O compêndio oficial de tal disciplina (*De Materia Medica Libri Cinque*), escrito por Pedânio Dioscórides no século primeiro d.C., contava com a descrição de 600 plantas medicinais, as quais constituíam a quase totalidade do arsenal de medicamentos da época. No início do séc. XIX, com a ampliação do conhecimento acerca dos medicamentos, fez-se necessário o surgimento de disciplinas especializadas: a farmacologia, responsável pelo estudo da ação e efeito das drogas, e a farmacognosia contemplando todos os aspectos das drogas, com menos ênfase em sua ação (Robbers et al., 1996).

A própria origem do termo farmacognosia (*pharmakon*: droga e *gnosis*: conhecimento) esclarece a abordagem da disciplina acerca do conhecimento das drogas. Segundo o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (Anvisa, 2011), droga é a planta medicinal, ou suas partes, após processos de coleta, estabilização e secagem, na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada. Por serem química e microbiologicamente estáveis, as plantas medicinais são muitas vezes adquiridas pelas indústrias de fitoterápicos na forma de drogas vegetais, o que dificulta a autenticação da espécie com a qual se trabalha.

O uso da passiflora como planta medicinal iniciou-se no século XVII na Europa, devido à sua propriedade sedativa (Hoehne, 1939). Atualmente, as espécies do gênero *Passiflora* são amplamente utilizadas na medicina popular de diversos países, sendo usualmente empregadas como sedativas e tranquilizantes (Conrado et al., 2003). Esse padrão de uso cosmopolita é evidenciado pela inclusão da espécie *Passiflora incarnata* L. em códigos farmacêuticos oficiais de muitos países (Gosmann et al., 2011), o que, somado ao fato da *P. incarnata* ser a espécie mais extensamente estudada, fez com que a grande maioria dos fitoterápicos fosse elaborada com essa espécie, inclusive no Brasil. Todavia, nativa dos Estados Unidos, *P. incarnata* não se adapta bem ao clima brasileiro. Por esse motivo, a Farmacopeia Brasileira 5ª ed (2010) optou por oficializar *Passiflora alata* Curtis e *P. edulis* Sims, o que estimulou a fabricação de medicamentos fitoterápicos com uma das duas espécies em sua constituição. Tais fatos, aliados à grande quantidade de espécies pertencentes ao gênero (cerca de 600), das quais muitas são popularmente conhecidas como maracujá, aumentam a probabilidade de confusão na identificação e diferenciação entre elas ou, até mesmo, de falsificação das drogas vegetais oriundas dessas espécies. Para minimizar a ocorrência de tais problemas, algumas ferramentas de auxílio como a farmacobotânica e a análise cromatográfica, podem ser empregadas.

A farmacobotânica é empregada para identificar caracteres anatômicos de diferenciação entre espécies. Freitas (1985) empregou esta ferramenta em um estudo comparativo de quatro espécies de *Passiflora*: *P. alata*, *P. edulis*, *P. quadrangularis* e *P. incarnata*, identificando algumas características de diferenciação como, por exemplo, a presença, tipo e localização de tricomas.

Por outro lado, a análise cromatográfica emprega métodos como a CCD e a CLAE para estabelecer um perfil específico para cada espécie. Os flavonoides C-glicosilados constituem a classe de substâncias químicas mais estudada para o gênero *Passiflora*, os quais possuem ampla distribuição no gênero e apresentam diferenças qualitativas e quantitativas entre as espécies, sendo, portanto, bons marcadores químicos (Qimin et al., 1991; Bokstaller e Schmidt, 1997).

Dessa maneira, o uso de metodologias adequadas possibilita um controle de qualidade efetivo para folhas de espécies de *Passiflora*, contribuindo positivamente na qualidade de produtos fitoterápicos contendo maracujá.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar espécies do gênero *Passiflora* L., no que tange seus aspectos farmacognósticos, a fim de estabelecer uma diferenciação morfoanatômica e cromatográfica que auxilie no controle de qualidade das folhas de espécies de *Passiflora* e, conseqüentemente, na qualidade de produtos fitoterápicos contendo maracujá.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer marcadores morfoanatômicos de diferenciação de espécies de *Passiflora*;
- Estabelecer perfil por Cromatografia em Camada Delgada para comparação das espécies trabalhadas;
- Aplicar metodologia por Cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada à detecção de arranjo de diodos, para comparação dos perfis flavonóidicos das espécies.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FAMÍLIA Passifloraceae E GÊNERO *Passiflora*

A família Passifloraceae, a qual abriga o gênero *Passiflora*, pertence à Ordem Malpighiales (APG II, 2003) e conta com cerca de dezessete gêneros e 750 espécies (Silvério, 2009). Segundo Cervi (1997), no Brasil ocorrem quatro gêneros: *Mitostemma* Mast., *Dilkea* Mast., *Tetrastylis* Barb. Rodr. e *Passiflora* L. com cerca de 120 espécies.

Segundo Escobar (1988), a família Passifloraceae está dividida em duas tribos: Paropsieae e Passiflorieae. A tribo Paropsieae, com seis gêneros, está representada somente no Velho Mundo, África e Madagascar: *Androsiphonia* e *Viridivia*, que são gêneros monotípicos, *Smeathmannia* (com duas espécies), *Barteria* (com cinco espécies), *Paropsiopsis* (com sete espécies) e *Paropsia*, a mais numerosa (com dez espécies). A tribo Passiflorieae é representada por quatorze gêneros. No Novo Mundo (América Latina) é formada por cinco gêneros: *Tetrastylis*, gênero monotípico (*T. ovalis*), *Ancistrotrysus* (com duas espécies), *Mitostemma* (com três espécies), *Dilkea* (com duas espécies) e *Passiflora*, o mais representativo da família.

O gênero *Passiflora*, pertencente à família Passifloraceae, é representado por quase 600 espécies, organizadas em quatro subgêneros (Muschner et al., 2003; Hansen et al., 2006). A grande maioria das espécies é contemplada em dois subgêneros: o subgênero *Passiflora* com 236 espécies e o subgênero *Decaloba* com 214 espécies. Os dois outros subgêneros, *Astrophaea* e *Deidamiodes* possuem 57 e treze espécies, respectivamente (Ulmer e MacDougal, 2004).

De acordo com Deginani (2001), a distribuição do gênero *Passiflora*, assim como de sua família, é pantropical, com a maior concentração de espécies do gênero ocorrendo entre os Trópicos de Câncer e Capricórnio, sendo que a maioria das espécies americanas ocorre na região Centro e Sul da América do Sul (Tangarife et al., 2009), poucas espécies estão distribuídas em zonas temperadas como o norte da América do Sul, sudeste da China e Nova Zelândia (Silvério, 2009). São muito mais raras na Ásia, Austrália e África tropical (Benincá et al., 2007). Nas regiões tropicais e subtropicais a distribuição se dá desde o nível do mar até altitudes superiores a 3000 m.s.n.m., porém a maior riqueza em espécies se encontra nas regiões moderadamente quentes e temperadas, entre 400 e 2000 m.s.n.m. (Tangarife et al., 2009).

No Brasil ocorrem cerca de 130 espécies pertencentes ao gênero *Passiflora*, sendo superado apenas pela Colômbia com 167, a qual é considerada o país com maior riqueza específica e diversidade para o gênero *Passiflora* (Pérez et al., 2007).

3.2 HISTÓRICO DO GÊNERO *Passiflora*

O começo da história do gênero *Passiflora* ocorreu concomitantemente à conquista e exploração espanhola das Américas. A passiflora foi, talvez, a planta do Novo Mundo que maior admiração causou aos colonizadores espanhóis dos séculos XVI e XVII, devido à beleza de suas flores e ao misticismo que sua morfologia suscitou entre as pessoas (Cervi, 1997).

A planta recebeu o nome de *Passiflora*, passionária ou flor da paixão. A primeira espécie descoberta (*Passiflora incarnata* L.) foi denominada flor da paixão pelo que partes da flor e folhas representaram para os homens de fé católica, os instrumentos da paixão de Cristo. Dessa maneira, as folhas recordavam a lança que transpassou o Salvador na cruz; as gavinhas, o açoite; a corona de filamentos, de coloração vermelha e azul, a coroa de espinhos; os três estiletes simulavam os três cravos e as cinco anteras representavam as chagas de Cristo crucificado (Figura 1) (Cervi, 1997).

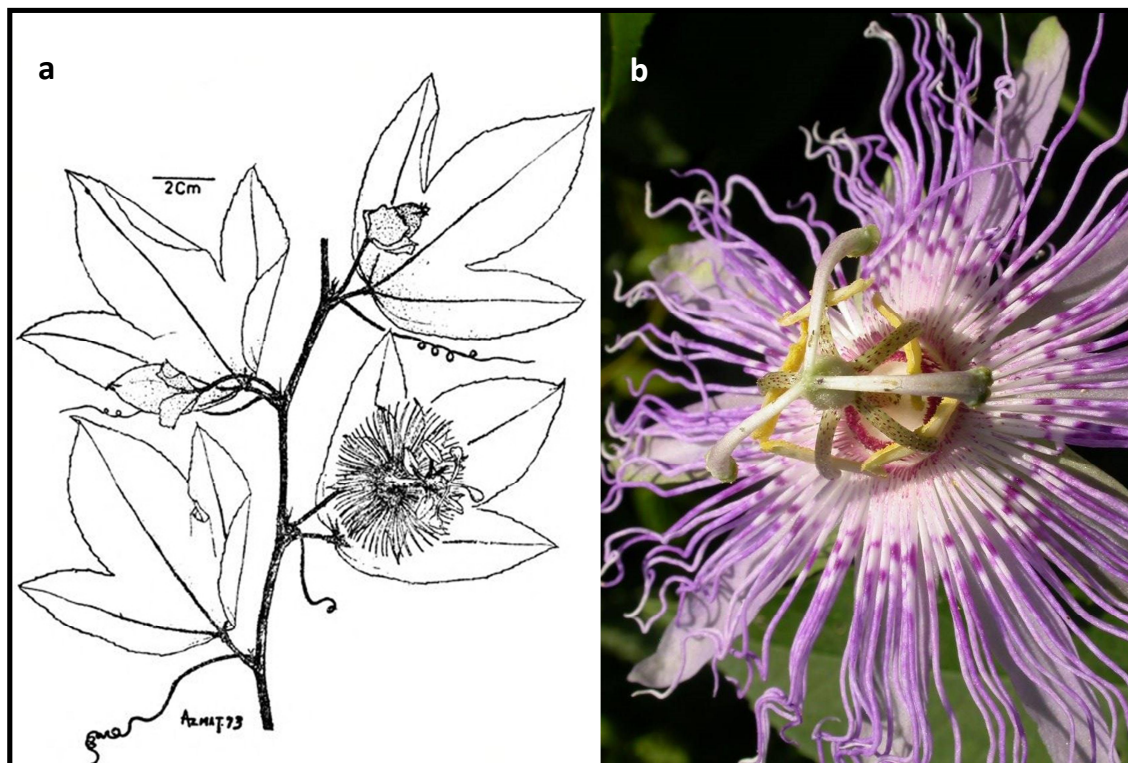


Figura 1. Aspecto morfológico de *P. incarnata*. a. hábito; b. detalhe da flor (Tropicos, 2015).

A planta foi cultivada e propagada por vários países da Europa a partir do ano de 1605, quando o papa Paulo V recebe um exemplar como presente dos missionários que estavam na América. No final do século XVII, referências científicas preliminares começam a ser delineadas acerca do assunto, onde trabalhos pré-Lineanos apresentam desenhos e descrições de passifloras. Contudo, foi Lineu quem, em 1735, estabeleceu o atual gênero *Passiflora*, na primeira edição do Sistema Naturae (Cervi, 1997).

Em 1828 é apresentada a primeira grande síntese sobre as passifloras por De Candolle (1828), o qual começou a consolidar o estudo da família Passifloraceae, reunindo a descrição de 145 espécies. Quase 50 anos mais tarde, em 1872, é divulgada uma das monografias mais importantes, completas e críticas, sobre as Passifloraceae da América. Trata-se da obra de Masters (1872) publicada na Flora brasiliensis de Martius, onde são enumeradas 202 espécies.

Killip (1938) publicou “The American species of Passifloraceae”. Esta obra é a mais completa e moderna que se conhece, sobre o gênero *Passiflora*. Em seu estudo, Killip reconhece 355 espécies de *Passiflora* para a América, das quais 101 são citadas para o Brasil. Nos anos de 1960, 70 e 80, Sacco descreve doze novas espécies de *Passiflora* para o Brasil.

3.3 ASPECTOS MORFOLÓGICOS

3.3.1 Família Passifloraceae

As espécies pertencentes à família Passifloraceae são, em sua maioria, plantas trepadeiras com gavinhas, que possuem folhas simples ou lobadas, com estípulas, flores vistosas, solitárias, raramente em inflorescências, com receptáculo desenvolvido em hipanto e apêndices acessórios na forma de coroa, opérculo e/ou androginóforo (Nunes, 2002).

As folhas são sempre alternas e incompletas, o que significa que não apresentam bainha. A lâmina foliar pode ser inteira (como em *P. galbana*), bilobada (*P. organensis* e *P. misera*), trilobada (*P. suberosa*, *P. recurva* e *P. setacea*) ou pentalobada (*P. cincinnata*). Sua textura pode ser coriácea (*P. trintae*), membranácea (*P. foetida*), cartácea (*P. rhamnifolia*) ou papirácea (*P. recurva*), às vezes terminando em um mucron (Nunes, 2002).

Pode-se encontrar em algumas espécies manchas ocelares, as quais se tratam de pequenas manchas de formato circular presentes na porção adaxial da folha e que se assemelham a ovos de borboletas, capazes de reduzir a oviposição de insetos na folha (MacDougal, 1994). Tais manchas podem ser vistas em *P. pohlii*, *P. capsularis*, *P. organensis* e *P. misera* (Nunes, 2002).

A heteroblastia, onde plantas jovens apresentam folhas de formas diferentes das adultas, ocorre em muitas espécies tais como *P. edulis*, *P. luetzelburgii*, *P. setacea* e *P. villosa* (Nunes, 2002). Autores como Escobar (1988) e MacDougal (1994) consideram esta diversidade uma adaptação para evitar a herbivoria, causada pela pressão seletiva exercida por mariposas sobre as espécies de Passifloraceae.

Quanto à nervação, as folhas podem ser peninérveas (*P. galbana* e *P. rhamnifolia*) ou palminérveas com três nervuras primárias (*P. recurva*, *P. setacea* e *P. suberosa*) ou, ainda, com cinco nervuras primárias (*P. mucronata*). Nas folhas palminérveas, o número de nervuras determina o número de lobos da folha. As nervuras secundárias geralmente chegam até a margem (*P. galbana* e *P. edmundoi*). Apenas no subgênero *Astropheae* e em algumas poucas espécies de outros subgêneros as folhas são peninérveas. Folhas do tipo uninérveas podem ser apresentadas por algumas espécies (Nunes, 2002).

As margens das folhas nessa família podem ser inteiras, serreadas, denteadas ou pectinadas. Os dentes são associados com o final das nervuras secundárias ou terciárias (MacDougal, 1994).

No que diz respeito à presença ou ausência de tricomas, a lâmina foliar pode ser glabra ou pubescente. Nessa família, os tricomas são frequentemente simples, produzindo indumento piloso, hirsutos à vilosos. Tricomas estrelados podem ocorrer em algumas espécies, como a *P. luetzelburgii*. Já os tricomas glandulares estão presentes apenas no subgênero *Dysosmia*, onde *P. foetida* está inserida (Nunes, 2002).

3.3.2 Gênero *Passiflora*

Cervi (1997) descreve o gênero *Passiflora* o caracterizando por vegetais herbáceos ou cipós, que se elevam com o auxílio de gavinhas, ou ainda arbustos subescandentes.

O caule pode ser cilíndrico, angular, sub-angular, raramente apresenta-se quadrangular e estriado longitudinalmente.

As folhas são sempre alternadas, sendo, entretanto, muito variáveis quanto à forma, inclusive dentro de uma mesma espécie e, às vezes, em um mesmo exemplar (como pode acontecer com *P. setacea* L.). Quanto ao formato, podem ser inteiras, orbiculares, elípticas ou amplamente ovadas; bi, tri, pentalobadas ou palmadas. A margem foliar normalmente é inteira, ainda que, em algumas espécies, possa ser denteada ou serreada. Quanto às nervuras, podem ser classificadas em tri-nervadas, penta-nervadas ou peninérveas, tais nervuras podem terminar em um pequeno mucrom. Em algumas espécies glândulas ocelares podem ser encontradas na face abaxial da folha.

As gavinhas são normalmente solitárias e axilares, bem desenvolvidas, robustas ou tênues. No pecíolo, com exceção de algumas espécies, encontram-se glândulas extra-florais (glândulas nectaríferas), sendo que a presença ou ausência destas glândulas no pecíolo, e sua forma, posição e número, constituem importantes caracteres diferenciais entre espécies ou grupos de espécies.

As flores apresentam cálice e corola, sendo as pétalas e sépalas sempre em número de cinco. As pétalas sempre são membranáceas, sendo alternas com as sépalas e de coloração muito variável. O fruto é uma baga de formato, cor e tamanho variável, encerrando em seu interior inúmeras sementes compridas, de testa dura e com o arilo recobrimdo toda a semente.

3.3.3 *Passiflora actinia* Hooker

É uma planta escandente, glabra, com caule cilíndrico ou subanguloso. Pecíolo medindo 2,5-5,5 cm, com 2-6 glândulas, geralmente quatro, sésseis ou subsésseis. As folhas apresentam-se inteiras, ovadas, medindo 5-9 × 3-7 cm; são subcoriáceas, com cinco nervuras (nervura central bastante proeminente); bordos inteiros, arredondados na base; obtusas no ápice; glaucas na face abaxial (Cervi, 1997).

As flores possuem 7-9 cm de diâmetro, as sépalas são oblongo-lanceoladas ou oblongo-ovadas, esverdeadas na face abaxial e alvas na face adaxial. As pétalas, oblongo-lanceoladas, membranáceas, alvas. O fruto é ovoide ou subgloboso, com 3,5-5 cm de diâmetro, amarelo quando maduro (Cervi, 1997).

3.3.4 *Passiflora alata* Curtis

Os aspectos morfológicos de *P. alata* já foram descritos em mais de uma situação.

De acordo com Cervi (1997) e Nunes (2002), *P. alata* trata-se de uma planta escandente, totalmente glabra, com gavinhas axilares desenvolvidas e robustas, apresentando caule quadrangular e alado. Nunes (2002) ainda acrescenta que o caule é fistuloso. O pecíolo, por sua vez, mede de 2 a 4,5 cm de comprimento, sendo glabro segundo Nunes (2002) e apresenta de duas a quatro glândulas. A lâmina foliar mede (8-)10-14 x 6-8(-10) cm de acordo com Nunes (2002) e 15(20) x 5-10(11,5) cm segundo Cervi (1997). É descrita como membranácea ou subcoriácea, inteira, oval à oval-oblonga, com ápice emarginado à agudo, base cordada, subcordada ou subcuneada, margem lisa ou denticulada, é penínérvea possuindo 5-8 pares de nervuras secundárias com nervação reticulada (Cervi, 1997; Nunes, 2002).

As flores medem 10-12 cm de diâmetro, são pêndulas, solitárias e vistosas (Nunes, 2002). As sépalas são verdes na face externa, magenta/carmim na face interna. As pétalas exibem cor magento-vináceas/carmim na face adaxial e são alvas na face abaxial, são oblongas com ápice obtuso. Baga com aproximadamente 8-10 x 4-6 cm, obovoide-piriforme, amarela/marrom quando madura (Cervi, 1997; Nunes, 2002).

Pereira et al. (2009) relatou igualmente que *P. alata* apresenta folhas inteiras, ovaladas, bordo inteiro, uma única nervura central e pecíolo com duas a quatro glândulas opostas.

3.3.5 *Passiflora amethystina* J.C. Mikan

É uma trepadeira herbácea que cresce nas bordas da mata ou em áreas abertas, raramente no interior da mata. Possui flores axilares solitárias que medem cerca de 4,5 cm de diâmetro. As sépalas são oblongas, externamente verdes e internamente levemente lilases. As pétalas são oblongas, levemente lilases e de consistência membranácea. A coroa é formada por quatro séries de filamentos, nas duas séries externas os filamentos são de cor violeta escuro, com manchas lilases e violeta claro. As duas séries centrais são formadas por filamentos mais curtos, eretos e de cor violeta escura (Koschnitzke, 1993).

Trepadeira escandente, herbácea, glabra, *P. amethystina* possui pecíolo com 2-6 cm de comprimento e 4-6 glândulas situadas da porção mediana à distal do pecíolo. Lâmina foliar medindo 7-8 x 3,5 cm, membranácea, 3-lobada, obovada, 3-5-nervada, ápice agudo, base truncada, subpeltada, margem lisa, glândulas ausentes na margem, com 2-4 glândulas nos sinus; lobo central (2,5-)6-8 x 2-4 cm, lobos laterais (2-)5-7 x 1-3 cm (Sacramento, 2002).

3.3.6 *Passiflora capsularis* L.

De acordo com Cervi (1981), *P. capsularis* é distribuída nas Antilhas, América Central (Guatemala, Honduras, San Salvador, Costa Rica, Cuba, Haiti, República Dominicana) e América do Sul (Colômbia, Equador, Uruguai, Paraguai e Brasil), sendo que no Brasil é encontrada em Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No Estado do Paraná ocorre em todas as regiões: Serra do mar, primeiro, segundo e terceiro planaltos. É conhecida popularmente por maracujá-branco, maracujá-branco-miúdo, maracujá, maracujazinho. A planta é usada na Guiana como emenagoga. Pio-Correa (1909) cita que as folhas são abortivas, a raiz tóxica e os frutos comestíveis.

Trata-se de uma trepadeira herbácea que cresce nas bordas da mata ou em áreas abertas, raramente no interior da mata. Suas flores axilares ocorrem aos pares, possuem cerca de 3 cm de diâmetro, as sépalas são verdes claras e pilosas externamente e esbranquiçadas e glabras internamente. As pétalas são brancas e translúcidas nas margens e de textura macia. A coroa possui uma série única de filamentos filiformes brancos, rijos e eretos. O fruto apresenta formato elipsoide (Koschnitzke, 1993).

P. capsularis possui pecíolo medindo 1-3 cm de comprimento, sem glândulas. A lâmina foliar mede 3-4 x 3,8-5 cm, é membranácea, 2-3-lobada; 3-nervada, oboval, ápice mucronado, base simétrica, cordada, margem lisa, lobo central reduzido, lobos laterais medindo 5,5-11 x 1,5-3,5 cm (Sacramento, 2002).

De acordo com Milward-de-Azevedo e Baumgratz (2004), *P. capsularis* possui folhas com pecíolo medindo 0,8-6 cm de comprimento, glândulas ausentes. Lâminas membranáceas, 2-3 lobadas, com 2,1-8 cm de comprimento da base ao centro da folha, 3,3-11,6 cm de comprimento da base ao ápice do lóbulo lateral, 2,9-11,8 cm de largura, ângulo entre lobos de 40-95°, ápice agudo, base cordada, margem inteira.

3.3.7 *Passiflora cincinnata* Mast.

Trepadeira lenhosa, com pecíolo medindo de 1,5-5 cm de comprimento, possui duas glândulas sésseis situadas na sua porção basal. A lâmina foliar possui os diâmetros de 4,5-7,5(-11) x 1,5-4(-15) cm, é membranácea, (3-)5-lobada à (3-)5-partida, 3-lobada nas folhas jovens, nervação reticulada, ápice mucronado, margem crenada à serrilhada, face abaxial levemente pubescente à glabra (Sacramento, 2002).

3.3.8 *Passiflora edulis* Sims.

P. edulis é uma planta escandente, totalmente glabra ou esparsamente vilosa, de caule cilíndrico e estriado, com gavinhas presentes. O pecíolo, 1-4 cm de comprimento, apresenta duas glândulas sésseis, situadas no ápice. As folhas medem 5-13,5 cm na nervura central e 5-8,5 cm nas nervuras dos lóbulos laterais, (a distância entre os ápices e os lóbulos laterais é de 7-13 cm) de acordo com Cervi (1997). As folhas são trilobadas e, segundo Nunes (2002), inteiras quando jovens, membranáceas à subcoriáceas, com três nervuras principais que nascem no ápice do pecíolo, a base é cordada ou cuneada à subcuneada, com glândulas sésseis na margem e nos sinus foliares. Os lobos são oblongo-elípticos (Nunes, 2002) e segundo Cervi (1997) oblongo-ovados ou ovados, com ápice agudo ou acuminado, margem serreada (Cervi, 1997; Nunes, 2002).

As flores apresentam 5-8 cm de diâmetro, sendo solitárias. As sépalas são verdes na face externa, brancas na face interna. As pétalas, por sua vez, são brancas, oblongas. O fruto na forma de baga é globoso a ovoide, e, de acordo com Cervi (1997) apresenta cor muito variável, amarelo, amarelo-esverdeado ou púrpura escuro.

Pereira et al. (2009), também observaram que *P. edulis* possui folhas trilobadas, com bordo crenado, apresentando glândulas de cor marrom clara e três nervuras principais. O pecíolo apresenta duas glândulas opostas.

Crochemore et al. (2003) não observaram a presença de tricomas nas folhas de *P. edulis* f. *edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa*. No mesmo trabalho, esses autores relataram que as duas formas de *P. edulis* podem ser distinguidas pelo comprimento de gavinha e de internódio de haste, cor da casca e da polpa do fruto. *P. edulis* f. *edulis* apresenta menor comprimento de espiral, internódios de haste mais curtos, casca de frutos de cor roxa, cor da polpa predominantemente laranja, enquanto a forma *flavicarpa* mostra maiores comprimentos de espiral de gavinha, internódios de haste mais longos, casca do fruto amarela e cor da polpa predominantemente laranja.

3.3.9 *Passiflora incarnata* L.

Planta herbácea, glabra ou finamente pilosa. Pecíolos medindo até 8 cm de comprimento, possui duas glândulas, na maioria das vezes, em seu ápice. Folhas 3-lobadas ou raramente 5-lobadas, 6-15x 7-17 cm, membranácea, margem serrilhada (Cervi, 1986).

3.3.10 *Passiflora morifolia* Mast.

As folhas apresentam pecíolo de 2,5-8,5 cm de comprimento, um par de glândulas próximo à base. As lâminas foliares são membranáceas, 3-lobadas (4-lobadas), 4,7-12,3 cm de comprimento entre a base e o lóbulo central, 2,7-8,7 cm de comprimento entre a base e o lóbulo lateral, 5,1-13,5 cm de largura, ângulo entre lobos de 95°-125°, ápice agudo, base obtusa à cordada ou auriculada, margem denteada (Milward-de-Azevedo e Baumgratz, 2004),

3.3.11 *Passiflora urnifolia* Rusby

Pecíolo levemente pubescente, com 1-4,5 cm, desprovido de glândulas. Folhas trilobadas, truncadas na base, membranáceas a subcoriáceas, com ocelos dispersos entre a nervura central e as laterais na face abaxial, sendo um par na base da lâmina. Lâmina foliar medindo 1,5-5,5 cm na nervura central, 3-7,5 cm nas nervuras laterais e de 3-10 cm entre os ápices dos lóbulos laterais. Lóbulos laterais em ângulo agudo entre si, ovalados, de ápice apiculado ou subtruncado, lóbulo central reduzido ou faltando, margem inteira (Milward-de-Azevedo et al., 2012).

3.3.12 *Passiflora coccinea* Aubl.

Planta trepadeira com folhas simples, inteiras, membranáceas, oblongas ou mais raramente orbiculares de 6-14 x 3-7cm. Ápice agudo, acuminado ou obtuso, base subcordada. Margem duplamente serreada ou mais raramente crenada. Glabra na face adaxial e ferruginosa ou tomentosa na face abaxial (Cervi e Dunaiski Junior, 2004).

P. coccinea apresenta oito glândulas foliares e cinco peciolares (Crochemore et al., 2003). Esses autores não observaram a presença de tricomas nas folhas de *P. coccinea*.

3.3.13 *Passiflora setacea* DC.

A espécie apresenta-se como uma trepadeira, com indumento tomentoso, caule cilíndrico e gavinhas presentes. O pecíolo, com 1,5 a 3 cm de comprimento, possui duas glândulas sésseis situadas na porção basal. A lâmina foliar mede de 6 a 8 cm (Nunes, 2002) e 5-8 x 6-10 cm (Cervi, 1997) de comprimento, é membranácea à subcoriácea, trilobada, podendo apresentar-se bilobada e raramente inteira nas folhas jovens segundo Nunes (2002), apresenta três nervuras principais, com face adaxial rugosa e abaxial tomentosa segundo Nunes (2002) ou ambas as faces pilosas sendo raramente glabra em uma das superfícies de acordo com Cervi (1997), o ápice tem forma acuminada, a base cordada, sua margem é serrulada ou subinteira e revoluta (Cervi, 1997; Nunes, 2002).

As flores de *P. setacea* possuem de 5 a 10 cm de diâmetro, são solitárias. As sépalas são internamente brancas, externamente verdes. As pétalas são brancas e linear-oblongas. O fruto é do tipo baga com aproximadamente 4 x 3 cm (Cervi, 1997; Nunes, 2002).

3.4 ASPECTOS MORFOANATÔMICOS

3.4.1 Aspectos característicos do gênero *Passiflora*

As folhas da maior parte das espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* possuem estrutura dorsiventral. O mesófilo apresenta poucas características especiais. As células epidérmicas possuem contorno reto a ondulado. Em muitas espécies, a epiderme da folha e caule é caracterizada por protuberâncias cuticulares, enquanto em outras seções essas estruturas possuem somente ocorrência isolada, um exemplo é *Passiflora spinosa* Mast. Os estômatos ocorrem geralmente na face abaxial das folhas. Os feixes vasculares das nervuras de pequeno porte podem ou não ser acompanhados por esclerênquima. Cristais de oxalato de cálcio são presentes no tecido foliar na forma de prismas ou drusas (Dhawan et al., 2004).

3.4.2 *Passiflora actinia* Hook.

A epiderme foliar é uniestratificada e revestida por cutícula levemente estriada com cera epicuticular em formato de escamas (Kurtz et al., 2003).

No limbo, em vista frontal, as células epidérmicas da face adaxial possuem paredes anticlinais levemente sinuosas. Na face abaxial as células são comparativamente mais sinuosas e são vistas células com papilas proeminentes. A folha é hipoestomática, com estômatos anomocíticos que são inseridos no mesmo nível das demais células epidérmicas (Kurtz et al., 2003).

O mesofilo é dorsiventral, composto por uma camada de parênquima paliádico e cerca de seis camadas de parênquima lacunoso. Idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio estão presentes no parênquima foliar. Os feixes vasculares de pequeno porte são colaterais e envolvidos por uma bainha parenquimática que pode conter drusas de oxalato de cálcio, além disso, possuem uma calota de fibras perivasculares aposta ao floema (Kurtz et al., 2003).

A nervura principal é biconvexa com maior proeminência junto à face abaxial. A epiderme é uniestratificada e não possui papilas. Em ambas as faces, são vistas de três a cinco camadas de colênquima angular. No parênquima fundamental há drusas e feixes vasculares colaterais com calota de fibras perivasculares aposta ao floema. São vistos quatro feixes dispostos em anel (Kurtz et al., 2003).

O pecíolo tem contorno praticamente circular, levemente achatado na face adaxial. A epiderme é uniestratificada, logo abaixo se encontra uma faixa contínua de cerca de quatro camadas de colênquima angular. São vistos cerca de sete feixes vasculares colaterais, dispostos em anel, próximo à face adaxial outros dois feixes são observados. Há drusas no parênquima fundamental (Kurtz et al., 2003).

3.4.3 *Passiflora alata* Curtis

A epiderme na nervura central é uniestratificada, abaixo se encontram camadas de colênquima em ambas as faces, seguidas por várias camadas de parênquima, em cujas células são encontradas drusas. Os feixes vasculares são do tipo colateral, cercados por fibras esclerenquimáticas. A nervura central é pronunciada na face abaxial, apresentando pequenas ondulações. Drusas podem ser vistas nas camadas de parênquima da nervura central abaxial (Pereira et al., 2009). Segundo a Farmacopeia (2010) os feixes vasculares estão organizados segundo um anel vascular central circundado por células esclerenquimáticas.

O limbo é classificado como assimétrico. O parênquima paliádico em *P. alata* é constituído por uma camada de células em geral em forma de funil e outras alongadas, com cerca de 570 µm de comprimento. Seu parênquima esponjoso tem aproximadamente 1257 µm de comprimento, sendo composto por cinco a sete camadas de células arredondadas e irregulares e de tamanho variável (Pereira et al., 2009).

P. alata é glabra. As células da face adaxial da epiderme apresentam contorno poligonal a levemente ondulado e as da face abaxial apresentam contorno ligeiramente ondulado de acordo com Pereira et al. (2009) e levemente sinuosas em ambas as faces de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010). Estômatos anomocíticos a anisocíticos são encontrados na face abaxial da epiderme segundo Pereira et al. (2009) e paracíticos, anomocíticos a anisocíticos de acordo a Farmacopeia (2010).

O pecíolo possui face adaxial côncava com duas projeções adaxiais e face abaxial convexa com uma única projeção central, em secção transversal. Internamente à epiderme

ocorre preenchimento por colênquima e o restante por parênquima. O sistema vascular é constituído de feixes centrais e dois outros localizados nas projeções laterais da face adaxial. Grande quantidade de idioblastos com drusas ocorre no colênquima, parênquima e feixes vasculares (Farmacopeia, 2010).

3.4.4 *Passiflora capsularis* L.

A lâmina foliar de *P. capsularis* é dorsiventral, hipoestomática e apresenta tricomas tectores. Em vista frontal, a face adaxial da epiderme da região internervural possui células de vários tamanhos e paredes anticlinais sinuosas pouco espessadas. Sobre a nervura, as células são alongadas e estreitas com maior eixo paralelo à nervura e paredes anticlinais levemente curvas. Na face abaxial da epiderme as células possuem paredes anticlinais marcadamente sinuosas na região internervural, sobre as nervuras são retas e levemente mais espessas, semelhantes às da face adaxial. Os complexos estomáticos são caracterizados como paracíticos e anomocíticos, sendo circundados por duas a cinco células epidérmicas (Meruvia et al., 1993).

Em secção transversal a lâmina foliar apresenta células na face adaxial da epiderme maiores que na abaxial, as quais possuem aspecto levemente papiloso. Os estômatos estão situados ao mesmo nível das células epidérmicas. Tricomas tectores unicelulares e pluricelulares unisseriados de base estreita com paredes suberificadas finas e de base alargada com paredes suberificadas espessas ocorrem em toda a lâmina foliar. O mesofilo possui um único estrato de parênquima paliádico e três de parênquima lacunoso. Os feixes vasculares de pequeno e médio porte são envoltos por uma bainha provida de cloroplastos. Estas nervuras são acompanhadas de idioblastos portadores de drusas (Meruvia et al., 1993).

A nervura central em corte transversal é proeminente em ambas as faces, com maior proeminência na face abaxial. A epiderme é uniestratificada, nas duas faces em posição subepidérmica ocorre colênquima do tipo lacunar. Idioblastos portadores de drusas são vistos no parênquima fundamental. O sistema vascular possui forma de arco com feixes vasculares do tipo colateral. O xilema possui elementos de proto e metaxilema dispostos em séries radiais. O floema acompanha o xilema em toda a sua extensão (Meruvia et al., 1993).

O pecíolo em corte transversal possui epiderme uniestratificada com tricomas tectores, tecido colenquimático em posição subepidérmica e parênquima fundamental. Na região proximal, o sistema vascular é constituído por dois feixes vasculares laterais voltados para a face adaxial e quatro feixes com arranjo semelhante a um círculo, três voltados à abaxial e um central voltado à adaxial. Na região mediana, dos três feixes voltados à face abaxial, dois iniciam processo de fragmentação, sendo que na região distal são vistos cinco feixes voltados para a face abaxial (Meruvia et al., 1993).

3.4.5 *Passiflora edulis* Sims

No que diz respeito à nervura central, sua epiderme é uniestratificada, abaixo são encontradas camadas de colênquima em ambas as faces, seguidas por várias camadas de parênquima, em cujas células são encontradas drusas (Pereira et al., 2009). O colênquima, classificado predominantemente como angular, possui três a quatro camadas de células

(Beraldo e Kato, 2010). O sistema vascular possui feixes do tipo colaterais e é cercado por fibras esclerenquimáticas (Pereira et al., 2009). O sistema vascular é composto por quatro feixes vasculares dispostos em círculo (Beraldo e Kato, 2010). Quanto ao formato, ambas as faces, abaxial e adaxial, são pronunciadas na nervura central (Pereira et al., 2009).

O limbo é classificado como assimétrico. O parênquima paliádico em *P. edulis* é formado por uma camada de células alongadas, com em média 494,77 µm de comprimento. O parênquima esponjoso mede aproximadamente 1172,40 µm de comprimento, sendo formado por 4-6 camadas de células ligeiramente arredondadas e de tamanhos variados (Pereira et al., 2009). O parênquima paliádico ocupa cerca de 1/3 da espessura do mesofilo e o parênquima lacunoso é composto por 6-7 camadas celulares. Drusas são vistas no parênquima lacunoso e na região floemática (Beraldo e Kato, 2010).

Foram encontrados tricomas tectores unicelulares de aproximadamente 817,39 µm de comprimento em ambas as faces da folha de *P. edulis* (Pereira et al., 2009). Tricomas tectores unicelulares foram igualmente encontrados na nervura central por Beraldo e Kato (2010). As células da face adaxial da epiderme apresentam contorno poligonal (Beraldo e Kato, 2010; Pereira et al., 2009). A face abaxial da epiderme apresenta células com contorno poligonal à ligeiramente ondulado segundo Pereira et al. (2009) e ligeiramente sinuoso de acordo com Beraldo e Kato (2010). Estômatos anomocíticos a paracíticos são encontrados na face abaxial da epiderme (Pereira et al., 2009). Segundo Beraldo e Kato (2010) predominam os estômatos anomocíticos.

No pecíolo são encontradas cerca de 3-6 camadas de células colenquimáticas com espessamento angular. O sistema vascular é composto por 5-6 feixes vasculares dispostos em círculo, mais dois feixes menores localizados um em cada lóbulo do pecíolo (Beraldo e Kato, 2010).

3.4.6 *Passiflora incarnata* L.

As faces superior e inferior da epiderme mostram paredes celulares anticlinais de contorno sinuoso. Numerosos estômatos anomocíticos são vistos na epiderme inferior, a qual contém grande quantidade de tricomas unisseriados de 1-3 células, sendo a célula terminal comparativamente longa, com ápice fino reto ou levemente curvado. Drusas de oxalato de cálcio de 10–20 µm de diâmetro são vistas no mesofilo ou alinhadas com os vasos (WHO, 2007).

A droga pulverizada apresenta-se verde clara e é caracterizada por fragmentos da epiderme foliar com paredes celulares sinuosas e estômatos anomocíticos, numerosos cristais de oxalato de cálcio isolados ou alinhados aos vasos, tricomas unisseriados retos ou levemente curvados terminando em uma ponta ou em um gancho (WHO, 2007).

3.5 ESTUDOS COMPARATIVOS

Freitas (1985) realizou um estudo farmacognóstico comparativo com quatro espécies de *Passiflora*: *P. alata*, *P. edulis*, *P. quadrangularis* e *P. incarnata*. Para isso foi realizada análise

microscópica dos materiais vegetais, possibilitando determinar alguns caracteres morfoanatômicos de diferenciação entre as espécies:

- O parênquima paliçádico de *P. alata* geralmente aparece mais frouxo do que o de *P. quadrangularis*;
- O parênquima paliçádico de *P. edulis* apresenta características muito próximas das observadas em *P. incarnata*;
- *P. alata* possui quantidade de drusas bastante superior à *P. quadrangularis*, sendo que em *P. alata* elas se distribuem por todo o parênquima lacunoso enquanto que em *P. quadrangularis* elas localizam-se preferencialmente nas bainhas que envolvem os feixes vasculares;
- *P. alata* e *P. quadrangularis* são glabras. *P. edulis* possui tricomas simples cônicos e curtos enquanto *P. incarnata* possui maior quantidade de tricomas, principalmente localizados na epiderme inferior, sendo cônicos com uma a cinco células, apresentando estrias sobre a cutícula que os revestem.

Além do estudo morfoanatômico, Freitas (1985) diferenciou os extratos fluidos das quatro espécies estudadas por meio de análises cromatográficas. O sistema de cromatografia em camada delgada da fração flavonoídica empregado consistiu em placas de sílica gel 60 F₂₅₄, fase móvel composta por acetato de etila, ácido fórmico e água 90:10:10 e visualização em luz UV seguida por revelação com solução de ácido oxálico 10%, ácido bórico 3% 1:3, seguida de aquecimento a 120 °C por 5 min.

Pereira et al. (2009) realizaram um estudo morfoanatômico comparativo entre duas espécies de *Passiflora*: *P. alata* e *P. edulis*. Após descrever os aspectos macro e microscópicos das folhas, chegou-se à conclusão de que as espécies são distintas pelos seguintes caracteres: presença ou ausência de glândulas na borda foliar, tricomas na epiderme da folha e tipo de estômato. Os valores dos índices de paliçada e estômatos constituíram fatores que permitiram distinguir quantitativamente a estrutura microscópica de ambas as espécies nesse trabalho. Além dessas características chave, os autores também observaram que:

- Em ambas as espécies a epiderme foliar é uniestratificada, são hipoestomáticas, o contorno das células das faces abaxial e adaxial é muito similar, o feixe vascular da nervura central é do tipo colateral;
- A face adaxial da nervura central é mais pronunciada em *P. edulis*. Na face abaxial a nervura central é pronunciada em ambas, no entanto, *P. alata* apresenta pequenas ondulações;
- *P. edulis* apresenta tricomas tectores unicelulares de aproximadamente 817,39 µm de comprimento em ambas as faces enquanto *P. alata* é glabra;
- O parênquima paliçádico, assim como o esponjoso, apresenta uma maior longitude em *P. alata*.
- O índice médio de paliçada é maior em *P. alata* que em *P. edulis*, existindo maior variabilidade em *P. edulis*;
- O índice estomático médio de *P. alata* é maior que em *P. edulis*, *P. alata* apresenta maior variabilidade.

Gosmann et al. (2011) compararam por CCD os extratos hidroetanólicos das partes aéreas das seguintes espécies: *P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. caerulea*, *P. capsularis*, *P. edulis* Sims var. *flavicarpa*, *P. elegans*, *P. foetida*, *P. misera*, *P. morifolia*, *P. organensis*, *P. suberosa*, *P. tenuifolia* e *P. urnifolia*. Foram empregadas placas de sílica gel GF₂₅₄ (Merck®), fase móvel para visualização de flavonoides: acetato de etila, acetona, ácido acético e água (6:2:1:1),

15 cm de migração e reagente de Neu como revelador. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 2.

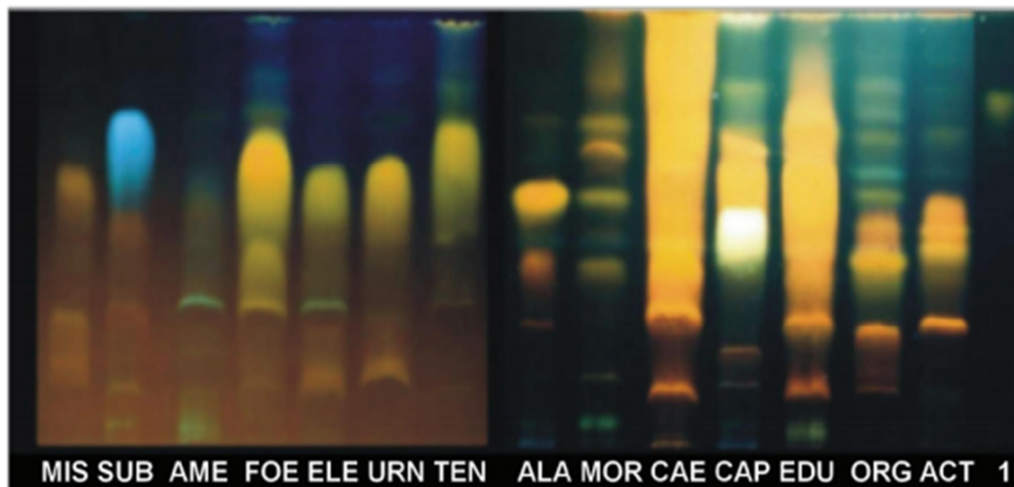


Figura 2. CCD das espécies *P. actinia* Hooker (ACT), *P. alata* Curtis (ALA), *P. amethystina* Mikan (AME), *P. caerulea* L. (CAE), *P. capsularis* L. (CAP), *P. edulis* Sims var. *flavicarpa* (EDU), *P. elegans* Masters (ELE), *P. foetida* L. (FOE), *P. misera* H.B.K. (MIS), *P. morifolia* Masters (MOR), *P. organensis* Gardner (ORG), *P. suberosa* L. (SUB), *P. tenuifolia* Killip (TEN), *P. urnifolia* Rusby (URN). Substância de referência: vitexina (1) (Gosmann et al., 2011).

Os autores relatam terem observado características importantes para os extratos. *P. suberosa* pode ser diferenciada por uma mancha azulada que não está presente em outras espécies e *P. alata* possui duas manchas principais amarelo-laranjadas. *P. amethystina* e *P. misera* apresentam manchas pálidas. *P. organensis*/*P. actinia*, e *P. caerulea*/*P. edulis* foram semelhantes entre si. *P. alata* e *P. edulis* possuem perfis cromatográficos diferentes (Gosmann et al., 2011).

Barbosa et al. (2013) compararam a anatomia das superfícies foliares de quatro espécies de *Passiflora*: *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. cincinnata*, *P. setacea* e *P. gibertii*, por meio de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Foi observado que todas as espécies são hipostomáticas, apresentando estômatos classificados como paracíticos ou anisocíticos. As células epidérmicas possuem contorno de suas paredes anticlinais levemente sinuosas. A maior diferença, relatada nesse estudo, entre as espécies analisadas está na presença e quantidade de tricomas. *P. edulis* e *P. gibertii* possuem tricomas escassos, *P. cincinnata* apresenta tricomas apenas nas nervuras, enquanto *P. setacea* exibe tricomas em abundância por toda sua superfície. Por meio da microscopia eletrônica de varredura pode-se notar a presença de estruturas cuticulares em *P. cincinnata*, *P. gibertii* e *P. setacea* e sua ausência em *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Leite et al. (2013) realizaram um estudo comparativo da morfoanatomia de folha e pecíolo de onze espécies de *Passiflora* de ocorrência no Estado de Alagoas: *P. alata*, *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis*, *P. foetida*, *P. mansoi*, *P. misera*, *P. porophylla*, *P. silvestris*, *P. suberosa* e *P. watsoniana*. Com relação à lâmina foliar, todas as espécies apresentaram folhas hipostomáticas, sendo que três tipos de estômatos foram encontrados: anomocítico, paracítico e anisocítico. Entre as espécies estudadas, duas apresentaram papilas na superfície abaxial da folha: *P. misera* e *P. watsoniana*. *P. alata*, *P. silvestris* e *P. watsoniana* mostraram-se glabras. Em *P. foetida* e *P. suberosa* foram vistos tricomas tectores unicelulares e multicelulares unisseriados. Em *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis*, *P. mansoi*, *P. misera* e *P. porophylla* apenas tricomas tectores unicelulares foram encontrados.

Farias (2014), com o objetivo de avaliar aspectos taxonômicos e evolutivos, realizou um estudo morfoanatômico para 47 espécies do gênero *Passiflora* (entre elas *P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. casularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis*, *P. incarnata*, *P. morifolia* e *P. setacea*). Foram estudados dois a três indivíduos de cada espécie, obtidos nas coleções dos herbários do Departamento de Botânica da UFPR (UPCB) e Museu Botânico Municipal (MBM), Curitiba-PR. Todos os caracteres avaliados, juntamente com os resultados obtidos para cada espécie foram apresentados na forma de uma tabela comparativa.

3.6 HÍBRIDOS

O programa de melhoramento genético do maracujazeiro realizado pela Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF, visa à obtenção de variedades mais produtivas, com maior resistência a doenças e qualidade físico-química dos frutos (Bellon et al., 2012).

O híbrido Estrela-do-cerrado foi o primeiro híbrido de maracujazeiro ornamental do Brasil, obtido a partir do cruzamento entre as espécies silvestres *P. coccinea*, de flores vermelhas e *P. setacea*, de flores brancas. Após a obtenção das progênies, foram selecionadas as plantas produtoras de flores maiores, com cores mais atrativas e mais tolerantes às doenças nas condições do Planalto Central.

O híbrido Rubiflora foi desenvolvido na Embrapa dos cerrados (para ser usado em ornamentação) a partir do cruzamento de *P. coccinea* e *P. setacea*. A partir do F1 foi realizado um retrocruzamento com *P. coccinea*. Após isso, as plantas produtoras de flores maiores, com cores mais atrativas e mais tolerantes às doenças nas condições do Planalto Central, foram selecionadas.

Roseflora, também desenvolvida para uso ornamental, foi obtida a partir do cruzamento de *P. coccinea* e *P. setacea*, sendo em seguida realizado um retrocruzamento com *P. setacea*. Do mesmo modo, as plantas produtoras de flores maiores, com cores mais atrativas e mais tolerantes às doenças nas condições do Planalto Central, foram selecionadas.

3.7 ETNOFARMACOLOGIA

O uso de *Passiflora* como um medicamento foi enaltecido pela primeira vez pelo pesquisador espanhol Monardus, no Peru em 1569, já que as belas flores de *Passiflora* lhe pareceram um símbolo da paixão de Cristo (Dhawan et al., 2004). Várias espécies de *Passiflora* têm sido extensivamente usadas no sistema tradicional de terapêutica de muitos países (Patel et al., 2011). No Brasil, as espécies conhecidas como maracujá são usadas como agente ansiolítico, sedativo, diurético e analgésico (Oga et al., 1984).

Os usos etnofarmacológicos identificados para o maracujá compreendem o sedativo, hipnótico, analgésico, antiespasmódico, tranquilizante, diurético, usado nas excitações nervosas, histeria, neurastenia, cefaleias, insônias, hiperatividade, falta de concentração em crianças, anti-helmíntico, diabetes, tratamento do colesterol, circulação, pressão alta, epilepsia, palpitações, espasmos, irritações bronco-pulmonares e expectorante (Azevedo, 2008).

Nas Antilhas, México, Holanda e América do Sul, a raiz tem sido usada como sedativa e vermífuga. Na Itália, a planta tem sido utilizada como um antiespasmódica e sedativa. Em Maurício, tintura e extrato da planta são usados como um remédio para a insônia devido a vários problemas nervosos, mas não devido à dor. A raiz tem sido utilizada como um diurético e a decocção de folhas como emético (Patel et al., 2011). *P. capsularis* é reputada como emenagoga (Cervi, 1981). Patel et al. (2011) cita que *P. edulis* tem sido empregada como sedativa, diurética, anti-helmíntica, antidiarreica, estimulante e também para o tratamento da hipertensão, sintomas da menopausa e cólicas infantis na América do Sul. *P. incarnata* é um remédio tradicional popular europeu, bem como um remédio homeopático para a insônia, ansiedade, sendo utilizada como chá sedativo na América do Norte (Patel et al., 2011).

3.8 AÇÕES FARMACOLÓGICAS

O maracujá é extensamente utilizado como planta medicinal, possuindo diversas indicações. Seu emprego mais usual é como sedativo e tranquilizante, sendo comum em vários países (Conrado et al., 2003).

O padrão cosmopolita de uso das passifloras e o fato de a *P. incarnata* ser a espécie mais estudada, inclusive do ponto de vista farmacológico, ocasionou a inclusão dessa espécie em códigos farmacêuticos oficiais de diferentes países, citados por Dhawan et al. (2004) e Parafitt (1999): British Herbal Pharmacopoeia 1983; Farmacopeia Homeopática Indiana 1974; Farmacopeia Homeopática Americana 1981; Farmacopeia Helvética 1987; Farmacopeias Egípcia, Francesa, Alemã e Suíça; British Herbal Compendium 1992; European Cooperative on Phytotherapy monographs – ESCOP 1997; Deutsches Arzneibuch 1997; Deutsches Homeopathisches Arzneibuch 1978; Comissão E 1998 e Matéria Médica Americana 1983.

Entre as espécies nativas brasileiras, um dos principais representantes no que se refere ao uso medicinal, é a espécie *P. alata*, que está descrita como matéria-prima farmacêutica nas edições I, II, III e V da Farmacopeia Brasileira. Várias preparações farmacêuticas são comercializadas no Brasil obtidas a partir de extratos das partes aéreas dessa espécie. As espécies que possuem estudos farmacológicos relativos à investigação da atividade central, fundamentada pela medicina popular, são *P. actinia*, *P. alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* e *P. quadrangularis* (Gosmann et al., 2011).

3.8.1 Passiflora incarnata L.

Os vários estudos pré-clínicos já realizados com *P. incarnata* indicaram atividades para essa espécie, tais como um potencial efeito sedativo relatado para um extrato etanólico das folhas e ramos administrado intraperitonealmente em ratos, nas doses de 80 e 160 mg/kg em experimento realizado por Speroni e Minghetti (1988) e em outro trabalho de Speroni et al. (1996) quando o mesmo extrato foi administrado em camundongos (65-250 mg/kg, *p.o.*). Esse efeito também foi observado por De Mello et al. (2007) que demonstraram que a associação entre extratos secos de *P. incarnata*, *Salix alba* e *Crataegus oxycantha* reduziu a atividade motora e exploratória e também aumentou o tempo de sono induzido por pentobarbital.

Efeito ansiolítico dose-dependente foi observado por Dhawan et al. (2001c) para um extrato metanólico, com atividade máxima observada a 125 mg/kg (*p.o.*), sendo que na dose de 300 mg/kg não foi observado efeito ansiolítico, estando provavelmente mascarado pelo efeito sedativo. Dhawan et al. (2001b) ainda observaram que as diferentes partes da planta geram atividades ansiolíticas em diferentes graus de magnitude, já que os extratos de folhas, ramos, flores e da planta inteira apresentaram atividade ansiolítica nas doses de 100, 125, 200 e 300 mg/kg, *p.o.*, respectivamente. Grundmann et al. (2008) observaram efeito ansiolítico comparável ao diazepam para um extrato padronizado de *P. incarnata* (375 mg/kg) administrado via oral. Elsas et al. (2010) observaram a indução de comportamento ansiogênico em camundongos, sem alterar a atividade motora após administração de extratos de *P. incarnata* por uma semana.

Outra atividade sobre o sistema nervoso central foi observada em um extrato comercial das partes aéreas de *P. incarnata* (PasipayTM), o qual foi efetivo em proteger camundongos de convulsões induzidas por pentilenotetrazol (90 mg/kg) (Shariati-Rad et al., 2007; Nassiri-Asl et al., 2007).

P. incarnata é a espécie sobre a qual estudos clínicos já foram realizados.

O tratamento de ansiedade generalizada foi comprovado por Akhondzadeh et al. (2001a) em estudo da atividade ansiolítica de um extrato das partes aéreas de *P. incarnata* (45 gotas/dia), comparável ao oxazepam (30 mg/dia). Além da eficácia comprovada, o extrato não causou prejuízo nas funções cognitivas e no desempenho no trabalho durante o uso, ao contrário do oxazepam. Akhondzadeh et al. (2001b) também estudaram a associação de *P. incarnata* (60 gotas/dia) e clonidina (0,8 mg/dia) comparado a pacientes tratados somente com clonidina (0,8 mg/dia). Aqueles tratados com a associação tiveram sintomas de ansiedade mais leves durante o processo de detoxificação de drogas opioides.

A atividade de um extrato comercial de *P. incarnata* (PassipayTM) (0,04 mg/kg/dia) e de metilfenidato (1 mg/kg/dia) no tratamento do distúrbio de déficit de atenção/hiperatividade foram avaliados durante oito semanas em 34 crianças diagnosticadas. Os resultados mostraram que ambos os tratamentos foram eficazes, o grupo tratado com o extrato, entretanto, apresentou menor incidência de efeitos adversos como ansiedade, irritabilidade e perda de apetite, quando comparado ao grupo metilfenidato (Akhondzadeh et al., 2005). O mesmo extrato comercial apresentou redução da ansiedade pré-operatória quando administrado em sessenta pessoas, 90 min antes da cirurgia, com a vantagem de não causar comprometimento psicomotor pós-anestesia (Movafegh et al., 2008).

Ao avaliar duas formulações constituídas de *P. incarnata*, *Crataegus oxycantha* e *Salix alba* e outra, de *P. alata*, *Crataegus oxycantha* e *Erythrina mulungu* contra os sintomas de insônia e ansiedade leves, Fiss et al. (2006) observaram que ambas as formulações foram efetivas na redução dos sintomas dos pacientes.

Uma revisão sistemática realizada por Miyasaka et al. (2009) avaliando trabalhos relativos à efetividade e segurança do uso de extratos *P. incarnata*, entretanto, chegou a conclusão de que são necessários estudos mais aprofundados para comprovar a eficácia desses extratos no tratamento da ansiedade em seres humanos.

Além das atividades sobre o SNC, outras atividades como a antimicrobiana foram avaliadas para *P. incarnata*. Mahady et al. (2005) observou atividade antibacteriana para o extrato metanólico de *P. incarnata* (CMC = 50 µg/ml) frente a *Helicobacter pylori*.

Dhawan et al. (2002) relataram atividade antitussígena para o extrato metanólico das folhas de *P. incarnata*. O mesmo extrato produziu atividade espasmolítica em cobaias.

3.8.2 *Passiflora actinia* Hook.

Para essa espécie já foram relatados os efeitos sedativo, ansiolítico, catatônico. O efeito sedativo foi observado para os extratos hidroetanólico (45%) (100 e 300 mg/kg) e metanólico (300 e 600 mg/kg) de *P. actinia* quando administrados via intraperitoneal em camundongos (Santos et al., 2005).

O efeito ansiolítico foi demonstrado por Lolli et al. (2006) para os extratos hidroetanólico (45%) (300 e 600 mg/kg) e metanólico (100 e 300 mg/kg) administrados via oral em camundongos no teste de labirinto em cruz elevado. Em doses mais elevadas os extratos apresentaram efeito sedativo, sendo que não houve efeito sobre a aquisição ou retenção de memória.

Um efeito catatônico foi observado em camundongos por Santos et al. (2005), com a administração dos extratos metanólico e hidroetanólico (45%) (300 mg/kg, *i.p.*) e também com todas as frações purificadas a partir do extrato metanólico.

3.8.3 *Passiflora alata* Curtis

Oga et al. (1984) relataram um discreto efeito anticonvulsivante além de prolongamento do tempo de sono induzido por pentobarbital e redução da atividade motora espontânea em camundongos administrados *i.p.* com extrato fluido (75 e 150 mg/kg). Efeito sedativo foi observado nas doses de 100 e 300 mg/kg de extrato fluido em camundongos submetidos aos testes de labirinto em cruz elevado, campo aberto e suspensão da cauda (Romanini et al., 2006).

O efeito ansiolítico já foi relatado para extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas de *P. alata* (100 e 150 mg/kg), com administração *i.p.* em ratos (Petry et al., 2001; De Paris et al., 2002; Barbosa et al., 2008) e com administração oral nas doses de 640 e 800 mg/kg (Reginatto et al., 2006).

Fenner (2006) observou efeito hipnótico (300 mg/kg, *p.o.*) e hipotérmico (300 e 600 mg/kg, *p.o.*), não sendo, contudo, observados efeitos ansiolítico e sedativo, quando da administração aguda em camundongos, de um extrato aquoso das partes aéreas de *P. alata*, caracterizado em 2,6% de flavonoides. Por outro lado, quando foi realizada a administração aguda de um extrato hidroetanólico, além do efeito hipnótico-sedativo, observou-se efeito ansiolítico (300 mg/kg, *p.o.*) (Provensi, 2007).

Além dessas, outras atividades, como a antioxidante, foram estudadas para *P. alata*. Rudnicki et al. (2007a) demonstraram atividade antioxidante de extrato hidroetanólico (40%) para essa espécie. Em estudo adicional, os mesmos autores observaram efeito protetor em ratos tratados com extrato aquoso (1 e 5 mg/kg, *p.o.*) por trinta dias no que se refere ao dano oxidativo hepático induzido por tetracloreto de carbono (Rudnicki et al., 2007b).

O papel antioxidante ainda é mencionado para *P. alata* pela Farmacopeia Brasileira (1977) que a relata como uma planta medicinal com importantes substâncias fototerapêuticas que agem neutralizando radicais livres no organismo.

Vargas et al. (2007) observaram atividade anti-inflamatória para o extrato aquoso de *P. alata* (100-300 mg/kg, *i.p.*).

Colomeu et al. (2014), ao avaliar o efeito antidiabético em camundongos tratados com extrato aquoso de folhas de *P. alata* (15 g/l) *ad libitum*, observaram que o grupo tratado apresentou uma diminuição na incidência de diabetes quando comparado aos grupos controles. Além disso, o extrato apresentou atividade antioxidante *in vitro*, correlacionada com a concentração de compostos fenólicos presentes.

3.8.4 *Passiflora edulis* Sims

O efeito ansiolítico de *P. edulis* já foi relatado em vários estudos. Para os extratos hidroetanólico a 40% e aquoso em ratos (Petry et al., 2001; De Paris et al., 2002). Para o extrato metanólico em camundongos (Dhawan et al., 2001a). Para extrato aquoso em ratos por Reginatto et al. (2006) e em camundongos por Coleta et al. (2006). Um efeito ansiolítico também foi observado para o extrato aquoso bruto e para as frações butanólica e aquosa residual obtidas do pericarpo de *P. edulis*, o extrato bruto também apresentou efeito sedativo (Sena et al., 2009).

Deng et al. (2010) também observaram atividade ansiolítica para extrato etanólico, aquoso e fração butanólica e atividade sedativa em doses mais altas para extrato etanólico e fração butanólica. A mesma relação dose/efeito foi observada para a isoorientina (**2**), devido a isso, os autores acreditam que os flavonoides sejam os principais responsáveis pelas atividades observadas para os extratos.

Além das atividades sobre o SNC, outras atividades já foram relatadas para *P. edulis*.

A atividade antioxidante foi observada para o suco dos frutos dessa espécie (Talcott et al., 2003) e para o extrato hidroetanólico 40%, sendo que neste estudo foi relatada uma relação direta entre a capacidade antioxidante e o conteúdo de fenóis totais do extrato (Rudnicki et al., 2007a). Ferreres et al. (2007) também demonstraram capacidade antioxidante para o extrato de *P. edulis*.

Montanher et al. (2007) e Vargas et al. (2007) relataram atividade anti-inflamatória após administração *i.p.* de um extrato aquoso de *P. edulis* (250 mg/kg) em um modelo de pleurisia induzida pela injeção de carragenina. Benincá et al. (2007) relataram resultados semelhantes após administração subcutânea do extrato aquoso (100 mg/kg) e das frações butanólica (50 mg/kg) e resíduo aquoso (100 mg/kg) obtidos da partição do extrato bruto.

Atividade cicatrizante foi observada quando da administração pré-operatória de extrato hidroetanólico (70%) de *P. edulis* (250 mg/kg) na cavidade peritoneal de ratos (Da Silva et al., 2006; Gomes et al., 2006; Bezerra et al., 2006).

Também foi observada atividade anti-hipertensiva para o extrato metanólico de *P. edulis* (10 e 50 mg/kg) administrado *p.o.*, reduzindo a pressão sistólica em ratos espontaneamente hipertensos (Ichimura et al., 2006).

3.9 CONSTITUENTES QUÍMICOS

Os constituintes químicos mais frequentemente citados para as espécies de *Passiflora* são os flavonoides C-glicosilados. Apesar de apresentarem uma ampla distribuição no gênero, diferenças qualitativas e quantitativas foram relatadas para essa classe de compostos nas espécies de *P. alata*, *P. edulis* e *P. caerulea* (Dhawan et al., 2004; Pereira et al., 2004).

Devido à grande prevalência, diversidade estrutural, estabilidade química e disponibilidade de métodos de análise qualitativos e quantitativos para flavonoides e saponinas, essas substâncias são marcadores químicos adequados para fornecer a autenticação de amostras, para detectar adulterações e propiciar a diferenciação entre espécies taxonomicamente semelhantes (Gosmann et al., 2011).

A constituição química de uma espécie é diretamente relacionada à sua atividade biológica. Como já citado por Noriega et al. (2011), a composição de flavonoides, apigenina (**3**), vitexina (**1**), isovitexina (**4**), orientina (**5**), rutina, isoorientina (**2**), vitexina-2"-O-ramnosídeo, entre outros, alcaloides, harmana, e saponinas de *P. alata*, pode ser responsável por sua atividade antioxidante, que conduz à neutralização de radicais livres no organismo.

3.9.1 Flavonoides

Os flavonoides auxiliam a identificação de muitas espécies de *Passiflora*, sendo, portanto, particularmente importantes para o controle de qualidade de medicamentos fitoterápicos contendo maracujá.

Os flavonoides constituintes de *Passiflora* são C-glicosilados, ou seja, os açúcares estão diretamente ligados ao núcleo aromático por uma ligação carbono-carbono nas posições 6 e 8 do núcleo dos flavonoides, a qual é resistente à hidrólise. Estes açúcares mostram-se pouco diversificados, sendo o principal a glicose. Os flavonoides C-glicosídicos são pigmentos polifenólicos abundantes em plantas, que possuem atividade biológica e são de interesse quimiotaxonômico. Essas substâncias são frequentemente usadas como marcadores na análise de medicamentos fitoterápicos (Qimin et al., 1991; Bokstaller e Schmidt, 1997).

Os primeiros estudos sobre flavonoides foram realizados com *P. incarnata* na década de 60, sendo essa a espécie até hoje mais bem estudada. Os flavonoides de *P. incarnata* são derivados da apigenina (**3**) e luteolina (**6**). A fração flavonoídica está sujeita a variações de conteúdo de acordo com a época da colheita, a parte da planta que constitui a droga, o local de cultivo e a metodologia de análise empregada (Pereira e Vilegas, 2000).

Schilcher (1968) demonstrou que as folhas e flores de *P. incarnata* são semelhantes quanto ao conteúdo de flavonoides totais, enquanto que nos caules esses componentes apresentam-se em quantidade cerca de quatro vezes inferior. Por outro lado, Menghini e Mancini (1988) observaram que o maior teor de flavonoides em *P. incarnata* encontra-se nas folhas e que o maior teor de isovitexina ocorre no período que antecede a floração até o período de floração do vegetal.

Quercia et al. (1978) realizaram uma das primeiras determinações de flavonoides em extratos de *P. incarnata* usando o método de CLAE. Os autores conseguiram identificar a presença de isovitexina e vitexina no extrato avaliado da espécie. Por outro lado, Qimin et al. (1991), utilizando análises de CLAE-UV, RMN C^{13} e EM, identificaram como constituintes majoritários de um extrato bruto de *P. incarnata*, isoschaftosídeo (**7**), isovitexina-2''-O-glucopiranosídeo, schaftosídeo (**8**) e isoorientina-2''-O-glucopiranosídeo, em ordem crescente de tempo de retenção.

Os constituintes químicos majoritários de *P. incarnata* são os flavonoides (acima de 2,5%), incluindo os derivados mono-C-glicosídeos isovitexina (acima de 0,32%), isoorientina e seus 2''-β-D-glicosídeos, e di-C-glicosídeos derivados schaftosídeo (acima de 0,25%), isoschaftosídeo (acima de 0,15%) e swertisina. Também foram encontrados derivados di-C-glicosídeos vicianina-2 (**9**) e lucenina-2 (**10**) e pequenas quantidades dos derivados mono-C-glicosídeos orientina e vitexina (WHO, 2007).

Com relação à *P. alata* foram encontrados os flavonoides orientina, vitexina, isovitexina, isoorientina e rutina (Freitas, 1985; Oga et al., 1984; Moraes et al., 1997), além desses, 2''-xilossil-vitexina, um flavonoide ainda não encontrado em *P. incarnata* e *P. edulis*, foi isolado dessa espécie por Ulubelen et al. (1982). Doyama et al. (2005) relataram a identificação de cinco C-glicosilflavonoides derivados da apigenina, luteolina e crisoeriol de um extrato aquoso das folhas de *P. alata*, são eles isovitexina, isoorientina, 2''-O-ramnosil-vitexina, 2''-O-ramnosil-scoparina e 2''-O-ramnosil-orientina. Madoglio (2011) identificou por meio de um método de CLAE-DAD com fase móvel composta por um gradiente de acetonitrila e ácido acético 1%, detecção a 340 nm e tempo de análise de 40 min, nas folhas dessa espécie, isoorientina, orientina, isovitexina e vitexina-2''-O-ramnosídeo sendo esse último o composto majoritário das folhas. Costa (2013) corroborou os resultados de Madoglio (2011) ao identificar o flavonoide 2''-O-ramnosil-vitexina como sendo o constituinte majoritário do extrato aquoso preparado a partir das folhas de *P. alata*. Além desse flavonoide, o autor também identificou orientina e isovitexina em *P. alata* por técnicas de CCD e CLAE com um método de gradiente composto por ACN e ácido fórmico 0,5%, coluna C18 e detecção a 340 nm.

Colomeu et al. (2014) observaram que extrato aquoso de *P. alata* apresentou um perfil de flavonoides em CLAE-DAD com concentrações em ordem decrescente de vitexina, isovitexina e isoorientina.

Freitas (1985) e Moraes et al. (1997) relataram a presença de vitexina, orientina, isovitexina e rutina em *P. edulis*. Novos flavonoides foram encontrados por Mareck et al. (1991): luteolina 6-C-chinovosídeo e luteolina 6-C-fucosídeo, ainda não detectados em outras espécies de *Passiflora*.

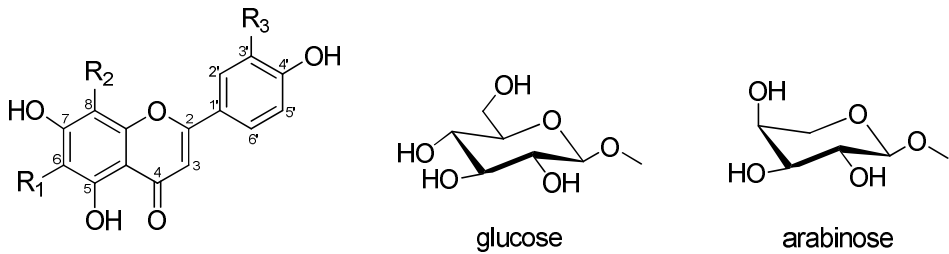
Ao estudar a variabilidade química de espécies do gênero *Passiflora*, Freitas (1985) observou diferenças entre as espécies *P. alata*, *P. quadrangularis*, *P. edulis* e *P. incarnata* pela comparação dos perfis cromatográficos obtidos por CCD dos extratos fluidos.

Outro trabalho, realizado por Moraes (1995), também constatou diferenças químicas entre espécies de *Passiflora*. Os perfis cromatográficos de flavonoides obtidos por CLAE para *P. edulis*, *P. alata* e *P. incarnata* permitiu diferenciá-las e forneceu informações preliminares acerca da identidade dessas espécies.

Flavonas, flavonois e flavonoides O-glicosídeos são encontrados apenas em *P. incarnata*, com exceção da rutina encontrada em *P. edulis* e *P. alata* (Pereira e Vilegas, 2000).

Avula et al. (2012) desenvolveram um método por CLUE para a análise simultânea de alcaloides harmânicos e dos flavonoides orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina das partes aéreas de *P. incarnata*, *P. violacea*, *P. edulis*, *P. suberosa*, *P. morifolia* e *P. quadrangularis*. O tempo de análise total foi de oito minutos com o uso de uma coluna C18 e gradiente composto por água e acetonitrila, ambos acidificados com ácido fórmico. As substâncias pesquisadas mais isoschaftosídeo e schaftosídeo foram identificados nas espécies e confirmados por CLUE-EM.

Sakalem et al. (2012) estudaram a composição química dos extratos hidroetanólicos das folhas de cinco espécies do gênero *Passiflora*: *P. vitifolia*, *P. coccinea*, *P. bahiensis* e *P. sidifolia*. Para isso, os extratos foram analisados por CLAE-DAD e por injeção direta em ESI-EM/EM. Foram identificados no extrato de *P. coccinea* os flavonoides vitexina-7-*O*-glucosídeo, orientina, apigenina-7-*O*-diglucosídeo e vitexina, em ordem crescente de tempo de retenção. Além de flavonoides, também foi observado no extrato a presença de derivados de procianidinas, as quais são constituídas exclusivamente por unidades de catequinas e epicatequinas arranjadas em dímeros à polímeros.



	R ₁	R ₂	R ₃
vitexina (1)	H	Glu	H
isorientina (2)	Glu	H	OH
apigenina (3)	H	H	H
isovitexina (4)	Glu	H	H
orientina (5)	H	Glu	OH
luteolina (6)	H	H	OH
isoschaftosídeo (7)	Ara	Glu	H
schaftosídeo (8)	Glu	Ara	H
vicenina-2 (9)	Glu	Glu	H
lucenina-2 (10)	Glu	Glu	OH

3.9.2 Alcaloides

Os alcaloides presentes em *Passiflora* são indólicos simples, do tipo β -carbolina. Muitos dos alcaloides pertencentes a esse grupo têm valor na medicina como tranquilizantes e no tratamento da hipertensão (Harborne e Baxter, 1995).

De acordo com Pereira e Vilegas (2000) existem contradições e discrepâncias quanto aos aspectos qualitativos e quantitativos dos alcaloides encontrados em *P. incarnata*. Segundo os autores isso pode ocorrer devido às metodologias aplicadas na quantificação das substâncias.

Além disso, outros fatores de variação do teor alcaloídico em drogas vegetais são os órgãos empregados, a época e o local de colheita. Considerando-se que a droga empregada consiste em partes aéreas de *P. incarnata* L., a variação da relação entre quantidades de folhas e caules pode ocasionar uma queda significativa no teor de alcaloides.

Com relação a *P. edulis* Sims., Lutomski e Malek (1975), ao comparar o teor de alcaloides harmônicos nos diferentes órgãos vegetais, verificaram que o maior teor desses alcaloides ocorre nas folhas. Lutomski e Malek (1976) verificaram a presença de alcaloides expressos em harmana em todas as partes de *P. edulis* f. *flavicarpa*, exceto nas raízes.

Oga et al. (1984) encontrou 0,217 mg% de alcaloides expressos em harmana no extrato seco de folhas de *P. alata*.

Por outro lado, Costa (2013), ao pesquisar alcaloides harmônicos no extrato aquoso das espécies *P. alata*, *P. quadrangularis*, *P. bogotensis* e *P. tripartita* var. *mollissima*, por meio de técnicas como a CLAE e a CLUE, não detectou concentrações superiores a 0,0187 ppm para nenhuma das quatro espécies.

3.9.3 Saponinas

Essa classe de metabólitos secundários, relatada para algumas espécies do gênero *Passiflora*, possui grande interesse farmacêutico como coadjuvante em formulações, componente ativo de drogas vegetais e como matéria-prima para a síntese de esteroides (Schenkel et al., 2011).

Bombardelli et al. (1975) realizaram um dos primeiros estudos acerca da presença de saponinas em *Passiflora*. Passiflorina, uma saponina glicosídica triterpênica, foi isolada das folhas de *P. edulis* e posteriormente identificada em folhas de *P. quadrangularis* e *P. mollissima* (Bombardelli et al., 1975). Yoshikawa et al. (2000a, b) descreveram onze saponinas para *P. edulis*, chamadas ciclopasiflorídeos I-XI.

Foram isoladas do extrato hidroetanólico das folhas de *P. alata* quatro saponinas com núcleo triterpênico, os ácidos 3-O-β-D-glicopiranosil-oleanólico, 3-O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-β-D-glicopiranosil-oleanólico, 3-O-β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-oleanólico e quadrangulosídeo, além de uma saponina com núcleo esteroidal, o 3-O-β-D-glicopiranosil-estigmasterol (Doyama et al., 2005; Reginatto et al., 2001).

3.10 A IMPORTÂNCIA DO GÊNERO *Passiflora*

As espécies do gênero *Passiflora* possuem diversas aplicabilidades. Suas flores têm diferentes formas de pétalas e variabilidade de cores de acordo com a espécie despertando um grande interesse na indústria de plantas ornamentais. Algumas espécies possuem frutos comestíveis, outras têm valor em usos medicinais ou, ainda, representam um recurso botânico-entomológico (García e Hoc, 1998).

Cerca de trinta espécies de *Passiflora* são descritas por terem frutos comestíveis. Apenas algumas dessas espécies, entretanto, alcançaram desenvolvimento comercial e são cultivadas (Patel et al., 2011; Schmidt et al., 1995), as mais conhecidas são *P. edulis* Sims, de casca roxa e seu mutante mais próximo *P. edulis* f. *flavicarpa*, de casca amarela (Schmidt et al.,

1995). *P. edulis* f. *flavicarpa*, conhecido como maracujá amarelo, é a forma mais cultivada em escala comercial no Brasil. São também difundidas, embora não na mesma proporção, *P. edulis* Sims (maracujá-roxo), *P. alata* Dryander (maracujá-doce), *P. quadrangularis* L., *P. caerulea* L. e *P. laurifolia* L. (Freitas, 1985; Souza e Meletti, 1997).

De acordo com dados do IBGE (2011) o Brasil é o maior produtor mundial de frutos de maracujá, com uma produção de 923 mil toneladas, em uma área de 61 mil hectares. A Bahia é o estado de maior produção, com 410 mil toneladas.

O uso do maracujá como planta medicinal é amplamente difundido, estando presente nas culturas americana, europeia e asiática. Seu uso etnofarmacológico contempla tanto as espécies comerciais como as silvestres (Costa e Tupinambá, 2005).

Seu uso popular, assim como as atividades farmacológicas já comprovadas para as espécies desse gênero, possibilitou a comercialização no Brasil de diversos medicamentos fitoterápicos contendo maracujá, tanto isoladamente como em associações com outras plantas medicinais. Perfeito (2012) relatou que o maracujá (*P. incarnata*) encontrava-se no ano de 2011 em sétimo lugar na lista de espécies vegetais com maior número de derivados registrados como medicamentos fitoterápicos simples. Além disso, no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (Anvisa, 2011), compêndio que dá suporte às práticas de manipulação e dispensação de fitoterápicos nos Programas de Fitoterapia no SUS, constam as espécies *P. alata*, *P. edulis* e *P. incarnata*, sendo a indicação de uso das três a mesma: ansiolítico e sedativo leve (usos etnofarmacológicos mais conhecidos). O fato de o maracujá se tratar de um medicamento fitoterápico de registro simplificado de acordo com a Instrução Normativa nº 5, de 11 de dezembro de 2008, sob a indicação de ansiolítico leve, contribui para que se justifique a existência de tantos medicamentos com tal planta em sua constituição, tornando o controle de qualidade dessa droga, em especial, de grande importância.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL BOTÂNICO

Folhas de espécies de *Passiflora* foram coletadas e utilizadas para este estudo.

4.1.1 Coleta

Foram coletadas, ao todo, 35 amostras correspondentes a doze espécies diferentes de *Passiflora*, mais três híbridos. Um extrato seco de *P. incarnata*, cedido por uma indústria de fitoterápicos local, foi igualmente submetido às análises cromatográficas. As coletas foram realizadas em diferentes datas nos Estados do Paraná, Santa Catarina, Distrito Federal e Rio Grande do Norte.

No Paraná, foram obtidas amostras nas margens da floresta do Campus Politécnico (1.1, 1.2 de *P. actinia* e 6.1 de *P. edulis* f. *flavicarpa*) e do Campus Botânico (1.3 de *P. actinia*) da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba. A amostra 2.5 de *P. alata* foi conseguida em um cultivo localizado no Largo da Ordem, centro de Curitiba. As amostras 4.4 de *P. capsularis* e 7.2 de *P. edulis* f. *edulis* foram coletadas nas margens da Floresta Atlântica da Serra do Mar, em Guaratuba. Amostras 6.2-6.4 de *P. edulis* f. *flavicarpa* e 2.4 de *P. alata* foram conseguidas em um cultivo existente no Refúgio Biológico Bela Vista em Foz do Iguaçu. As amostras 8.1 e 8.2 de *P. incarnata* foram obtidas em dois momentos em uma propriedade particular em Vera Cruz do Oeste.

Em Santa Catarina, coletas foram realizadas no perímetro urbano (amostras 2.2 de *P. alata* e 3.1 de *P. amethystina*), saída do perímetro urbano (amostra 4.2 de *P. capsularis*), na Linha Capelinha (amostras 3.3 de *P. amethystina* e 4.1 de *P. capsularis*), Linha Putinga (amostra 4.3 de *P. capsularis*), Linha Alto Santana (9.1 de *P. morifolia*) e Linha Lambedor (9.3 de *P. morifolia*) todas na cidade de Ipira. Em Piratuba foram coletadas as amostras 3.2 de *P. amethystina* e 2.3 de *P. alata*, essa última próxima ao camping. Em Peritiba foram conseguidas as amostras 9.2 de *P. morifolia*, perímetro urbano, e 10.3 de *P. urnifolia*, Linha Alto Santana. Também foram realizadas coletas em Irani, nas margens da BR 151 (10.1 de *P. urnifolia*) e em Concórdia, Linha Alto Santana (10.2 de *P. urnifolia*).

No Distrito Federal foram obtidas amostras de cultivo das espécies *P. alata* (2.1), *P. coccinea* e *P. setacea*, e dos híbridos oriundos de experimentos de melhoramento genético, Estrela-do-Cerrado (50% *P. setacea*, 50% *P. coccinea*), Rubiflora (75% *P. coccinea*, 25% *P. setacea*) e Roseflora (75% *P. setacea* e 25% *P. coccinea*), na Embrapa dos Cerrados.

No Estado do Rio Grande do Norte, em Natal, foi coletada a amostra analisada de *P. cincinnata*.

O Quadro 1 apresenta os dados das coletas realizadas, além da identificação das exsiccatas e os respectivos Herbários nos quais as amostras foram depositadas.

Quadro 1. Resumo dos dados de coleta das espécies/híbridos de *Passiflora* estudados, códigos de identificação das exsicatas e Herbários de depósito.

Amostra	Espécie/Híbrido	Local de coleta	Data de coleta	Identificação da exsicata	Herbário(s) de depósito
1.1	<i>P. actinia</i> Hook.	C. Politécnico, UFPR, Curitiba-PR	30/08/2013	L. Wosch 01	HACC, UPCB
1.2		C. Politécnico, UFPR, Curitiba-PR	06/05/2014	D. C. Imig 332	HACC, MBM, UPCB
1.3		C. Botânico, UFPR, Curitiba-PR	06/05/2014	L. Wosch 03	HACC, UPCB
2.1	<i>P. alata</i> Curtis	Planaltina-DF	15/08/2013	D. C. Imig 52	UPCB, MBM
2.2		Ipira-SC	05/04/2014	D. C. Imig 336	HACC, UPCB
2.3		Piratuba-SC	05/04/2014	D. C. Imig 347	HACC, MBM
2.4		Foz do Iguaçu-PR	24/04/2014	C. L. Reichert 04	HACC
2.5		Largo da Ordem, Curitiba-PR	07/05/2014	L. Wosch 04	HACC
3.1	<i>P. amethystina</i> J.C. Mikan	Ipira-SC	05/04/2014	D. C. Imig 334	HACC, MBM
3.2		Piratuba-SC	05/04/2014	D. C. Imig 348	HACC, MBM
3.3		Ipira-SC	05/04/2014	D. C. Imig 335	HACC, MBM
4.1	<i>P. capsularis</i> L.	Ipira-SC	05/04/2014	D. C. Imig 337	HACC, MBM
4.2		Ipira-SC	05/04/2014	D. C. Imig 319	HACC, MBM
4.3		Ipira-SC	05/04/2014	D. C. Imig 320	HACC, MBM
4.4		Serra do mar - PR	29/05/2014	D. C. Imig et al., s.n.	HACC
5	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Natal-RN	07/2014	L. Wosch 05	HACC, MBM
6.1	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> O. Deg.	C. Politécnico, UFPR, Curitiba-PR	30/08/2013	L. Wosch 02	HACC, UPCB
6.2		Foz do Iguaçu-PR	24/04/2014	C. L. Reichert 02	HACC
6.3		Foz do Iguaçu-PR	24/04/2014	C. L. Reichert 03	HACC
6.4		Foz do Iguaçu-PR	24/04/2014	C. L. Reichert 05	HACC
7.1	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>edulis</i>	Serra do mar - PR	29/05/2014	M. E. Engels et al. 2490	MBM
7.2		Capinzal - SC	21/07/2014	D.C.Imig 346	HACC, MBM
8.1	<i>P. incarnata</i> L.	Vera Cruz do Oeste-PR	25/04/2014	C. L. Reichert 06	HACC
8.2		Vera Cruz do Oeste-PR	02/06/2014	C. L. Reichert 06	HACC
8.3		Extrato seco cedido por uma indústria local de fitoterápicos			
9.1	<i>P. morifolia</i> Mast.	Ipira-SC	04/04/2014	D. C. Imig 338	HACC, UPCB, MBM
9.2		Peritiba-SC	04/04/2014	D. C. Imig 339	HACC, UPCB
9.3		Ipira-SC	04/04/2014	D. C. Imig 340	HACC, UPCB, MBM
10.1	<i>P. urnifolia</i> Rusby	Irani-SC	04/04/2014	D. C. Imig 343	HACC, UPCB
10.2		Concórdia-SC	04/04/2014	D. C. Imig 342	HACC, MBM
10.3		Peritiba-SC	04/04/2014	D. C. Imig 341	HACC, MBM
11	<i>P. coccinea</i> Aubl.	Planaltina-DF	15/08/2013	D. C. Imig et al. 293	MBM
12	<i>P. setacea</i> DC.	Planaltina-DF	15/08/2013	D. C. Imig et al. 284	HACC, UPCB, MBM
13	Estrela do cerrado	Planaltina-DF	15/08/2013	D. C. Imig 349	HACC, MBM
14	Rubiflora	Planaltina-DF	15/08/2013	D. C. Imig 350	HACC, MBM
15	Roseflora	Planaltina-DF	15/08/2013	D. C. Imig 351	HACC, MBM

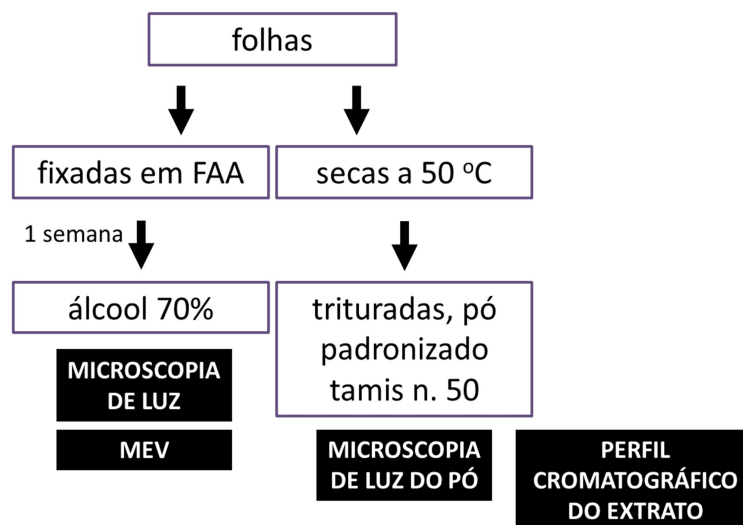
HACC - Herbário Armando Carlos Cervi; UPCB - Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná; MBM - Museu Botânico Municipal, Curitiba, PR, Brasil.

4.1.2 Processamento das amostras

Após coletadas, folhas em bom estado (inteiras e sem a presença de contaminação visível por fungos e bactérias) foram selecionadas. Uma parte foi fixada em FAA 70 (Johansen, 1940) por sete dias e em seguida acondicionada em etanol 70%. Tais amostras foram posteriormente analisadas por microscopia de luz e MEV. O restante das amostras foi seco em estufa a 50 °C e moído em moinho analítico Quimis®, modelo G298A21. As amostras secas e

moídas foram padronizadas em granulometria igual ou inferior a 300 μm , por passagem em tamis de mesma abertura de malha. O pó obtido foi analisado por microscopia de luz e cromatografia.

Um esquema geral do processamento das amostras é apresentado no Fluxograma 1.



Fluxograma 1. Esquema geral do processamento das amostras botânicas.

4.2 ESTUDO MORFOANATÔMICO

4.2.1 Microscopia de luz

A fim de realizar um estudo comparativo com base nos caracteres morfoanatômicos dos espécimes trabalhados, as amostras acondicionadas em etanol 70% foram analisadas quanto à sua estrutura por secção transversal e observação paradérmica. Os cortes dos limbos foliares foram realizados ao nível do terço médio inferior da folha. Os cortes dos pecíolos foram efetuados na porção proximal à lâmina foliar.

Para a geração de imagens foi usado um microscópio composto Olympus (BX41TF, Tóquio, Japão) equipado com o software analySIS getIT (Olympus Soft Imaging Solution, Australia).

4.2.1.1 Secções transversais

Amostras do limbo foliar, incluindo nervura central, e pecíolo foram processadas e incluídas em historresina (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) segundo orientação do fabricante. As secções foram feitas em micróto mo de rotação com navalha de aço (Leica, RM2145), com 5 μm de espessura. Para isso, amostras acondicionadas em etanol 70% foram desidratadas em série etanólica crescente (EtOH 80, 90 e 95% por 2 h cada). Em seguida, o etanol 95% foi substituído por solução de etanol absoluto e historresina + ativador, 1:1 v/v, as

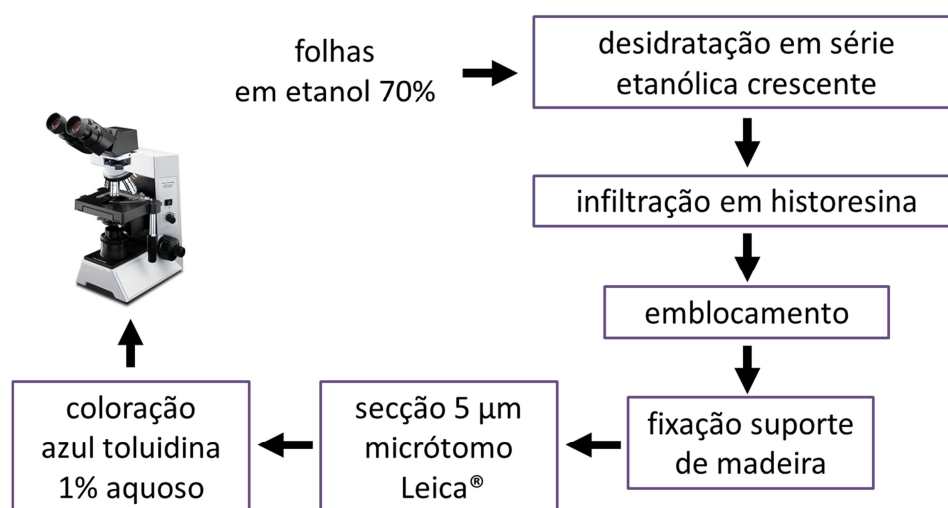
amostras foram submetidas a vácuo e armazenadas. Em seguida, a solução foi substituída por historresina + ativador. As amostras foram submetidas a vácuo por um dia e, então, armazenadas em geladeira.

Após isso, as amostras infiltradas foram emblocadas, coladas em suporte de madeira e seccionadas.

Os cortes foram corados com azul de toluidina de acordo com a técnica de Feder e O'Brien (1968). Para isso, as lâminas foram lavadas em banho de água destilada a 40 °C por 2 min, coradas com azul de toluidina (solução 1% em água destilada) a 40 °C por 2 min 15 s e enxaguadas em dois banhos de água destilada a TA.

Após secas, as lâminas foram montadas com DPX Mountant for Histology, Sigma.

O Fluxograma 2 mostra um esquema simplificado do tratamento das amostras para análise das secções transversais.



Fluxograma 2. Processamento das amostras para obtenção e análise de secções transversais de nervura central, limbo e pecíolo.

4.2.1.2 Observação paradérmica

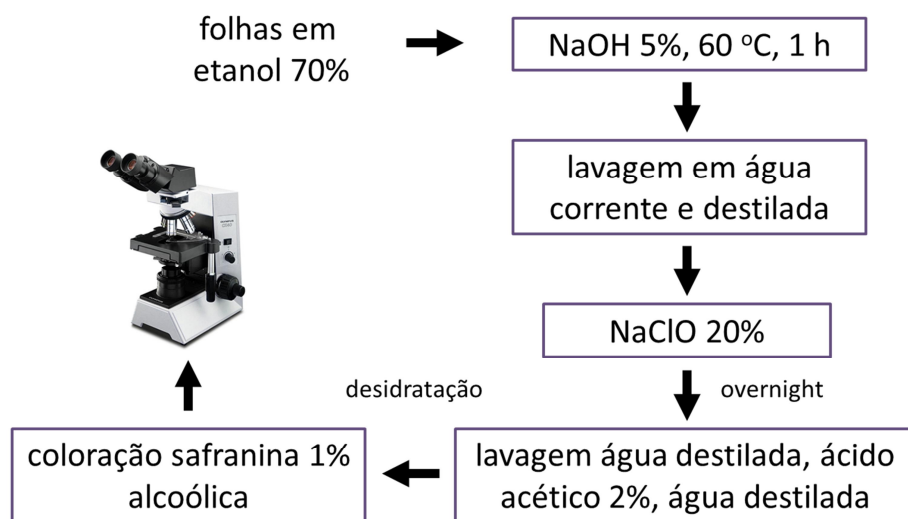
A análise morfoanatômica da epiderme em vista frontal foi realizada pela técnica de diafanização proposta por Kraus e Arduin (1997). Para isso, foram separadas amostras de aproximadamente 1 cm² das lâminas foliares de cada exemplar. As folhas, anteriormente em etanol 70%, foram colocadas em NaOH 5% e deixadas em estufa a 60 °C por 1 h. Após esse período, a solução de NaOH foi descartada e as amostras lavadas várias vezes em água corrente e, em seguida, em água destilada. As amostras foram, então, colocadas em hipoclorito de sódio comercial diluído a 20% e deixadas à temperatura ambiente por 12 h ou até que as folhas estivessem completamente descoloridas.

Após isso, as amostras foram lavadas uma vez com água destilada, uma vez com ácido acético 2% e novamente com água destilada por duas vezes.

Para a coloração, foram primeiramente desidratadas em série etanólica crescente, passando por EtOH 10, 30, 50, 70 e 90% por 5 min cada, sendo, então, coradas em solução alcoólica de safranina 1%.

Posteriormente, o excesso de corante foi removido em etanol 70% e lâminas semipermanentes foram montadas com gelatina glicerizada (Kaiser, 1880).

O Fluxograma 3 ilustra o tratamento realizado com as amostras para a visualização frontal da epiderme foliar.



Fluxograma 3. Processamento das amostras para análise das faces adaxial e abaxial da epiderme foliar.

4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises em MEV foram realizadas em alto vácuo e alta voltagem de aceleração (15 kV) em um microscópio Jeol JSM-6360LV. Para isso, as amostras foram previamente desidratadas em série etanólica crescente e secas via ponto crítico com CO₂ (equipamento Bal-Tec CPD-030), sendo, em seguida, fixadas em suporte metálico com fita de cobre e metalizadas com ouro (equipamento Balzers SCD 030).

4.2.3 Microscopia do pó

A droga na forma de pó (folhas secas e trituradas), uma forma comum de apresentação da mesma, foi analisada por microscopia de luz.

Lâminas semipermanentes foram montadas com uma pequena quantidade de droga diafanizada em cloral hidratado.

4.3 ANÁLISE QUÍMICA

As diferenças quanto aos perfis dos constituintes químicos das amostras foram avaliadas pelas técnicas de cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).

4.3.1 *Cromatografia em camada delgada (CCD)*

4.3.1.1 Extração

A 200 mg de droga vegetal foram adicionados 1 ml de etanol 60%. A mistura foi agitada em vórtex por 10 s e extraída por 10 min em equipamento de ultrassom. Após decantação, o sobrenadante obtido foi aplicado sobre as cromatoplasas com o auxílio de capilares de vidro na forma de bandas.

4.3.1.2 Fase móvel

As placas cromatográficas foram desenvolvidas em dois sistemas eluentes diferentes. O primeiro foi composto por acetato de etila, acetona, ácido acético e água (6:2:1:1) (Gosmann et al., 2011). O segundo sistema, adaptação da fase móvel proposta por Wagner e Bladt (1996), foi constituído por acetato de etila, ácido acético, ácido fórmico e água (10:1,1:1,1:2,5).

4.3.1.3 Fase estacionária

Foram utilizadas placas em alumínio de sílica gel 60, 20 x 20 cm, sem indicador de fluorescência para cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE), Merck® art. 5547.

4.3.1.4 Condições cromatográficas

Empregou-se cuba cromatográfica em vidro com dimensões internas de 14 cm de altura e 21 cm de largura, a qual foi mantida fechada durante as análises. A ativação das placas foi realizada em estufa a cerca de 90 °C por 1h30min. A temperatura e umidade ambientes foram mantidas constantes a 20 °C e 50%, respectivamente. A distância percorrida pelo eluente foi padronizada em 9 cm.

4.3.1.5 Revelador

Após completa evaporação do solvente de eluição com auxílio de ar quente, as placas foram reveladas com reagente de Neu (Wagner e Bladt, 1996). Para isso, foram borrifadas com difenilboriloxietilamina 1% em MeOH, secas com ar quente e observadas sob luz UV a 365 nm. Em seguida, foram borrifadas com polietilenoglicol 4000 5% em EtOH, secas com ar quente, observadas sob luz UV 365 nm e fotografadas.

4.3.1.6 Padrões

Os padrões empregados foram isovitexina (P), adquirida da ChromaDex®, além de vitexina, isoorientina e orientina, gentilmente cedidos pela professora Maique Weber Biavatti, da Universidade Federal de Santa Catarina.

As soluções aplicadas foram preparadas a 1 mg/ml em metanol para isovitexina, isoorientina e orientina e em metanol e água, 1:1 v/v, para vitexina. Os padrões foram, assim como os extratos, aplicados sobre as cromatoplasmas na forma de bandas com o auxílio de capilares de vidro.

4.3.2 Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)

O perfil de flavonoides das amostras foi avaliado por CLAE-DAD por meio de um método já validado pelo grupo de pesquisa para o doseamento do flavonoide isovitexina em extratos de *P. actinia*, adaptado do método proposto por Muller et al. (2005).

4.3.2.1 Instrumentação

As análises por CLAE dos extratos foram realizadas em equipamento ProStar Gradiente Varian, bomba Prostar 230, detector de arranjo de fotodiodos 335. Coluna Kromasil® 100 - 5 µm C-18 (diâmetro de 250 x 4,6 mm).

4.3.2.2 Condições Cromatográficas

A fase móvel foi constituída por um gradiente de 0,5% de ácido acético em água MilliQ (A), metanol (B) e acetonitrila (C), variando em concentração conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Gradiente de fase móvel usado em CLAE-DAD.

Tempo (min)	% A	% B	% C
início	75	15	10
25	62	20	18
30	75	15	10

A fase móvel foi filtrada por membrana filtrante Millipore® PTFE 0,45 µm. A vazão usada foi de 1,0 ml/min, o tempo de corrida de 30 min e o comprimento de onda de detecção de 340 nm.

4.3.2.3 Preparo das amostras

Foram pesados 200 mg de amostra e adicionados de 8 ml de etanol 60%. Após agitados por 15 s em vórtex, os tubos de ensaio foram colocados em aparelho de ultrassom por 30 min. O extrato foi então filtrado por algodão para balão volumétrico de 10 ml e o volume completado com o solvente extrator. As amostras foram, em seguida, filtradas em filtro Millex® LCR com membrana PTFE 0,45 µm 13 mm não estéril e acondicionadas em frascos de vidro âmbar a 4 °C até o momento das análises, sendo injetadas sem diluição adicional, a 20 mg/ml.

4.3.2.4 Padrões

Os padrões empregados foram os mesmos utilizados para a cromatografia em camada delgada, isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina. As soluções iniciais foram preparadas a 1 mg/ml em metanol para isovitexina, isoorientina e orientina e em metanol:água 1:1 para vitexina. Os mesmos solventes foram utilizados posteriormente para a diluição necessária dos padrões para injeção em CLAE.

5. RESULTADOS

5.1 ESTUDO MORFOANATÔMICO

5.1.1 *Análise morfológica externa*

As folhas das espécies de *Passiflora* analisadas apresentaram importantes variações quanto à sua morfologia externa, como pode ser observado na Figura 3 e no Quadro 2.

O formato da lâmina foliar variou de inteiro, 2, 3, 5-lobado a 5-partido. As margens apresentaram-se inteiras, serreadas, glandular serreadas a crenuladas. Os ápices exibiram formato que variou entre o agudo, obtuso e o agudo acuminado. As bases foram classificadas de arredondadas, cordadas, subcordadas a atenuadas. As dimensões da lâmina foliar e pecíolo variaram consideravelmente entre as espécies, assim como a presença e número de glândulas no pecíolo.

Quadro 2. Caracteres morfológicos externos apresentados pelas espécies/híbridos analisados.

			<i>P. actinia</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. amethystina</i>	<i>P. capsularis</i>	<i>P. cinnamata</i>	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	<i>P. incarnata</i>
lâmina foliar	formato		inteira, ovalada	inteira, ovalada a elíptica	3-lobada, lóbulos obongos	2-3 lobada, lóbulos ovalados	5-lobada a 5-partida	3-lobada, lóbulos oblongos	3-lobada, lóbulos oblongos	3-lobada, lóbulos oblongo lanceolados
	tamanho	larg. (cm)	4-7	7-15	6-10	6-8,5	9	11-22,5	15,5-24	4,5-6
		comp. (cm)	5-9	9,5-17,5	5-8	7-9,5	6-7	9-17	12,5-17	4-6
	ápice		obtusos a agudo acuminado	agudo acuminado	obtusos	agudo	agudo a obtuso	agudo acuminado a obtuso	acuminado	agudo acuminado
	base		arredondada	arredondada a subcordada	cordada a subcordada	cordada a subcordada		subcordada a atenuada	subcordada a atenuada	cordada a subcordada
	margem		inteira	inteira a espaçadamente glandular serreada	inteira, glândulas nos sinus	inteira	glandular serreada	serreada	serreada	serreada
	coloração		verde claro e lustrosas em ambas as faces	verde clara em ambas as faces	verde escuro, glauca na face abaxial	verde clara e opacas em ambas as faces	verde escuro em ambas as faces, face abaxial levemente opaca	verde escuro em ambas as faces, lustrosa na face adaxial, opaca na face abaxial	verde escuro em ambas as faces, lustrosa na face adaxial, opaca na face abaxial	verde em ambas as faces, face abaxial glauca
	coloração após secagem		mais clara na face abaxial	lev. mais clara na face abaxial	escurecidas, mais clara na face abaxial	mais clara e acinzentada na face abaxial	face abaxial mais clara e uniforme	face abaxial mais clara e opaca	mais clara na face abaxial	mais clara na face abaxial
	nervação		peninérvea	peninérvea	palmatinérvia	palmatinérvia	palmatinérvia	palmatinérvia	palmatinérvia	palmatinérvia
n. de nervuras centrais		1	1	3	3	5	3	3	3	
pecíolo	tamanho (cm)		2,5-3,5	3,5-5	2-4,5	2,5-4	3	2-6	5-6	1,5
	glândulas	número	~6	2-4	5-7	ausentes	2	2	2	2
		localização	2 dispersas	acima da porção mediana	dispersas próx. a lâmina		a cerca de 1cm da a base	próx. a lâmina	próx. a lâmina	próx. a lâmina

larg. – largura; comp. – comprimento; n. – número.

Quadro 2. Continuação - Caracteres morfológicos externos apresentados pelas espécies/híbridos analisados.

			<i>P. morifolia</i>	<i>P. urnifolia</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. setacea</i>	Estrela-do-cerrado	Rubiflora	Roseflora
lâmina foliar	formato		3-lobada no ápice	2-lobada, lóbulos lanceolados	inteira, oblonga a elíptica	3-lobada, lóbulos oblongos	inteira, oblonga a elíptica	inteira, oblonga a elíptica	inteira, oblonga a elíptica
	tamanho	larg. (cm)	5,5-10,5	5,5-6	4-5	9,5	7	6	10
		comp. (cm)	5-9,5	7-8	11	10,5	12-13	11	15-16
	ápice		agudo a obtuso	obtusos a agudo	agudo	agudo acuminado	agudo	agudo	agudo
	base		cordada	atenuada	arredondada a subcordada	cordada a subcordada	subcordada	subcordada	subcordada
	margem		serreada a crenulada	inteira	serreada	serreada	serreada	serreada	serreada
	coloração		verde claro e opacas em ambas as faces	verde, as vezes variegadas, face abaxial opaca	verde em ambas as faces	verde a verde claro em ambas as faces, face abaxial opaca	verde em ambas as faces, face abaxial opaca	verde em ambas as faces, face abaxial opaca	verde em ambas as faces, face abaxial opaca
	coloração após seca		face abaxial mais clara, diferença evidente	face abaxial mais clara, diferença evidente	igual em ambas as faces	face abaxial mais clara, diferença evidente	face abaxial mais clara, diferença evidente	face abaxial levemente mais clara	face abaxial levemente mais clara
	nervação		palminérvea	palminérvea	peninérvea	palminérvea	peninérvea	peninérvea	peninérvea
n. de nervuras centrais		3	3	1	3	1	1	1	
pecíolo	tamanho (cm)		2-4	2-2,5	2	4-5	2,5	3	4,5
	glândulas	número	2	ausentes	ausentes	4	2	ausentes	2
		localização	porção mediana				porção mediana	porção mediana	

larg. – largura; comp. – comprimento; n. – número.

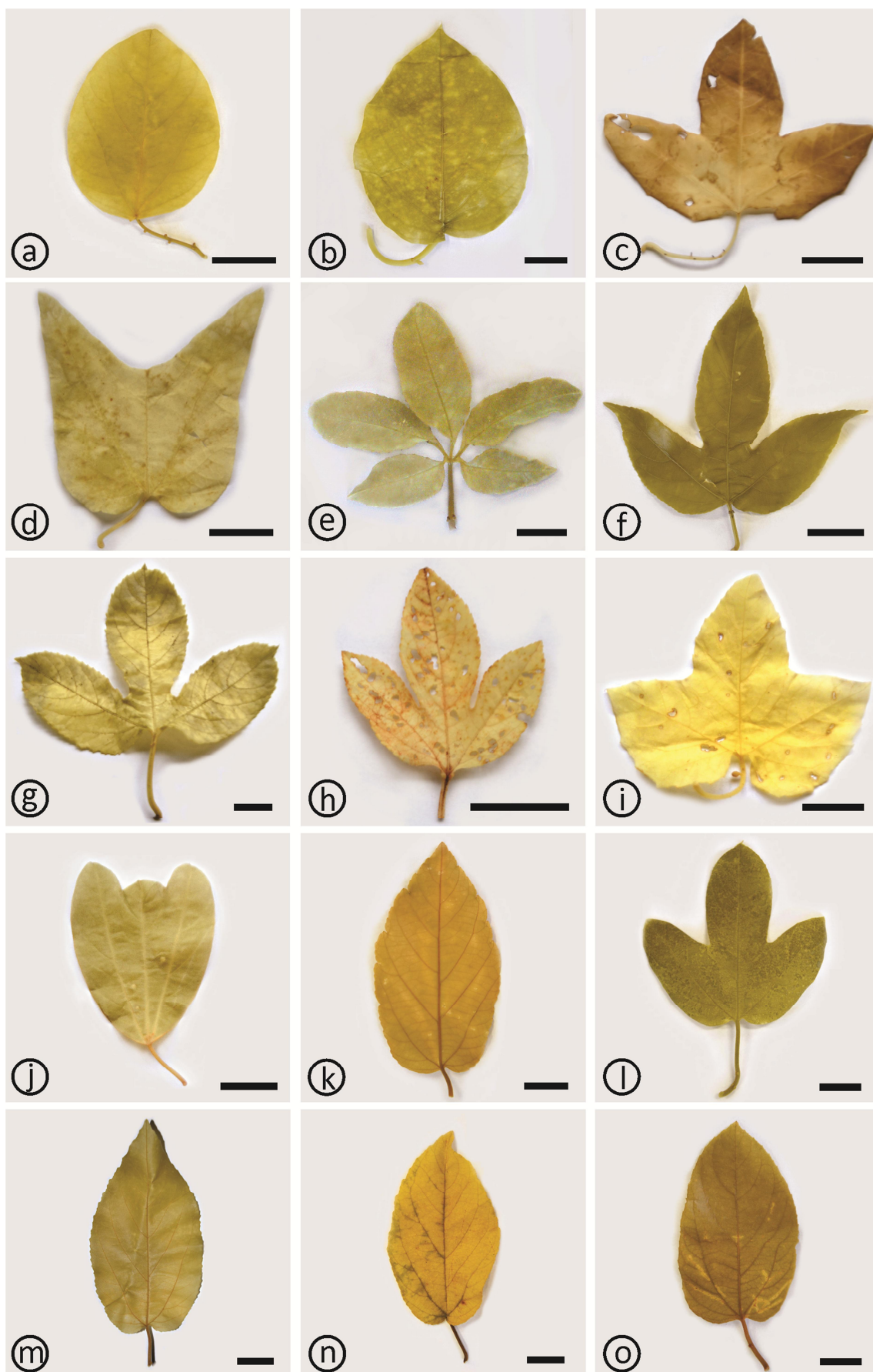


Figura 3. Folhas, aspecto morfológico externo. Faces adaxiais. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g. *P. edulis* f. *edulis*; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. Obs: a coloração não corresponde à apresentada pelas folhas frescas, as imagens foram obtidas após fixação em FAA. Barras = 2 cm.

5.1.1 Análise anatômica

5.1.1.1 Epiderme

A análise anatômica em vista frontal da epiderme foliar permitiu observar diferenças quanto ao contorno das paredes anticlinais das células das diferentes espécies analisadas. Com relação à face adaxial, o contorno apresentou-se reto a levemente ondulado para *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. coccinea*, *P. setacea* e para os três híbridos; levemente ondulado a ondulado para *P. urnifolia*; ondulado a levemente sinuoso para as amostras de *P. actinia*; levemente sinuoso a sinuoso para *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. incarnata* e *P. morifolia*. As duas amostras de *P. edulis* f. *edulis* mostraram-se diferentes quanto a esse parâmetro, o contorno foi reto a levemente ondulado para 7.1 e levemente sinuoso a sinuoso para 7.2 (Figura 4).

O contorno das paredes anticlinais da face abaxial foi levemente ondulado a ondulado em *P. alata* e *P. cincinnata*; ondulado a levemente sinuoso em *P. coccinea*; levemente sinuoso a sinuoso para *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. edulis* f. *flavicaarpa*, *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia*, *P. setacea* e para os três híbridos. O contorno das duas amostras de *P. edulis* f. *edulis* foi diferente, com 7.1 levemente ondulado a ondulado e 7.2 levemente sinuoso a sinuoso (Figura 5). Os tipos de contorno das paredes anticlinais observados para as diferentes amostras analisadas estão inseridos no Quadro 3.

Quadro 3. Contorno das paredes anticlinais da epiderme das faces adaxial e abaxial apresentado pelas diferentes espécies e híbridos analisados.

EPIDERME contorno das paredes celulares anticlinais	<i>P. actinia</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. amethystina</i>	<i>P. capsularis</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicaarpa</i>	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>		<i>P. incarnata</i>	<i>P. morifolia</i>	<i>P. urnifolia</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. setacea</i>	Estrela-do-cerrado	Rubiflora	Roseflora
							7.1	7.2								
reto a lev. ondulado		AD			AD		AD					AD	AD	AD	AD	AD
lev. ondulado a ondulado		AB			AB	AD	AB				AD					
ondulado a lev. sinuoso	AD											AB				
lev. sinuoso a sinuoso	AB		AD/ AB	AD/ AB		AB		AD/ AB	AD/ AB	AD/ AB	AB		AB	AB	AB	AB

lev. – levemente; AB – contorno apresentado pela face abaxial; AD – contorno apresentado pela face adaxial.

Foram encontrados apenas tricomas do tipo tectores nas amostras analisadas.

Quanto à presença de tricomas, *P. actinia*, *P. alata* e *P. amethystina* mostraram-se glabras em ambas as faces da lâmina foliar. *P. cincinnata* apresentou tricomas apenas na face adaxial. *P. capsularis*, *P. edulis* f. *flavicaarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia*, *P. coccinea*, *P. setacea* e os três híbridos são pubescentes em ambas as faces. A ausência de tricomas nas três espécies citadas, comparadas com a alta densidade presente na espécie *P. setacea*, pode ser observada em suas nervuras centrais e pecíolos na Figura 8.

P. capsularis possui tricomas inseridos nas regiões nervural e internervural, distribuídos uniformemente pela lâmina foliar. Dois tipos de tricomas tectores podem ser distinguidos nessa espécie. O primeiro trata-se de um tricoma tector cônico, de base larga, que se estreita gradualmente, ápice fino, parede celular espessada, apresentam região em meia esfera na base, cutícula ornamentada, sendo em sua maioria bicelulares, com uma célula pequena na base e uma mais longa que se estende até o ápice, e alguns multicelulares (Figura 6 a). O segundo tipo trata-se de um tricoma tector cilíndrico, estreito, de espessura constante, menor em comprimento que o primeiro tipo, ápice arredondado, parede celular delgada, cutícula ornamentada e unicelulares (Figura 6 a). A face abaxial apresenta-se mais densamente pilosa. O primeiro tipo de tricoma mostrou-se mais longo na face abaxial, sendo vistos alguns unicelulares (Figura 6 a, d).

Os tricomas de *P. cincinnata* foram vistos somente sobre as nervuras de grande porte da face adaxial da lâmina foliar e em pequena quantidade. São tricomas cônicos, curtos, de base larga, ápice estreito, parede celular espessada, com cutícula ornamentada e unicelulares (Figura 6 b, e).

Em *P. edulis* f. *flavicarpa* tricomas de ocorrência muito rara foram visualizados somente por MEV nas regiões adaxial e abaxial da nervura central. São tricomas cônicos, curtos ou médios, de base larga, ápice estreito e com cutícula ornamentada (Figura 6 c, f).

P. incarnata possui tricomas nas regiões nervural e internervural, com a grande maioria sobre as nervuras de grande e pequeno porte. Os tricomas vistos na face adaxial são cilíndricos, largos, de diferentes comprimentos sendo os maiores encontrados sobre as nervuras, parede celular delgada, ápice levemente afilado, unicelulares e bicelulares. Na face abaxial o mesmo tipo de tricoma é observado, sendo, entretanto, mais longos, uni, bi e também multicelulares, com até cinco células (Figura 6 i, l).

P. morifolia mostrou tricomas nas regiões nervural e internervural, distribuídos uniformemente pela lâmina foliar. Dois tipos de tricomas tectores foram vistos. O primeiro é maior, possui espessura praticamente constante até afunilar-se em um ápice curvo em formato de gancho que não se corou com safranina, apresenta parede celular espessada, cutícula ornamentada, sendo unicelular. O segundo, também unicelular, é menor e alarga-se levemente da base ao ápice ou apresenta espessura constante (cilíndrico), terminando em um ápice arredondado, possui parede celular delgada e cutícula ornamentada. Os tricomas são circundados em sua base por 6-7 células epidérmicas em formato de rosetas. Os mesmos tricomas foram encontrados na face abaxial com a diferença de que, nessa face, menos tricomas do segundo tipo são encontrados, sendo a grande maioria do primeiro tipo (Figura 7 a, d).

Em *P. urnifolia*, a distribuição se dá quase uniformemente nas regiões nervural e internervural, sendo apenas mais concentrados nas nervuras de maior porte. Nessa espécie apenas um tipo de tricoma tector foi encontrado em ambas as faces. São unicelulares, cilíndricos, finos e longos com espessura constante, terminando em ápice arredondado que se cora mais fracamente, possuem parede celular espessada e cutícula ornamentada (Figura 7 b, e).

P. coccinea possui tricomas tectores distribuídos uniformemente sobre as nervuras de grande e pequeno porte. A face abaxial possui uma densidade de tricomas bastante superior à adaxial. Foi encontrado somente um tipo de tricoma que se afila gradativamente, com ápice agudo, parede celular espessada, apresentando região em meia esfera na base. Os menores são

unicelulares, alguns bicelulares, com uma célula pequena na base e outra longa que se estende até o ápice, outros multicelulares com número variado de células (3-13) (Figura 7 c, f).

P. setacea apresenta tricomas distribuídos sobre a região nervural, somente sobre nervuras de grande porte, na face adaxial e distribuição sobre as regiões nervural e internervural na face abaxial, a qual se apresenta muito mais densamente pilosa. Os tricomas tectores são filiformes, longos e finos terminando em ápice bastante agudo, possuem parede celular espessada e região em meia esfera na base, são bicelulares, com uma célula menor na base e outra maior até o ápice, alguns mais longos são multicelulares com dez ou mais células (Figura 7 g, j).

Com relação aos híbridos, Estrela-do-cerrado possui tricomas distribuídos nas regiões nervural e internervural, com a grande maioria sobre as nervuras em ambas as faces. Na face adaxial os tricomas são cilíndricos, longos e afilados, alguns unicelulares, outros bicelulares, com uma célula pequena na base e outra longa que se estende até o ápice, possuem parede celular espessada e apresentam região em meia esfera na base. A face abaxial é mais densamente pilosa e possui tricomas com a mesma descrição, possuindo, entretanto, alguns tricomas maiores com três células (Figura 7 h).

Em Rubiflora, os tricomas são distribuídos principalmente sobre as nervuras de grande e pequeno porte em ambas as faces. Na face adaxial foram vistos tricomas semelhantes aos de Estrela-do-cerrado, com a diferença de que foram encontrados alguns tricomas multicelulares, com número de células variado. A face abaxial é mais densamente pilosa com tricomas com a mesma descrição da face superior, tendo sido encontrados tricomas de diferentes tamanhos, os menores são unicelulares, alguns são bicelulares com uma célula pequena na base e outra longa que se estende até o ápice, outros são multicelulares com número de células variando de acordo com o tamanho do tricoma (Figura 7 i).

Roseflora possui tricomas distribuídos nas regiões nervural e internervural, com a grande maioria sobre as nervuras em ambas as faces. Os tricomas possuem o mesmo formato dos presentes nos outros dois híbridos. Na face adaxial foram encontrados somente tricomas multicelulares. Na face abaxial, mais densamente pilosa, foram vistos, assim como em Rubiflora, tricomas de diferentes tamanhos, os menores são unicelulares, alguns são bicelulares com uma célula pequena na base e outra longa que se estende até o ápice, e outros são multicelulares com número de células variando de acordo com o tamanho do tricoma (Figura 7 k).

As duas amostras de *P. edulis* f. *edulis* foram diferentes também quanto à presença de tricomas. Em 7.1 foram vistos tricomas tectores em ambas as faces. Na face adaxial foram vistos tricomas na região nervural. Na face abaxial foram encontrados na região nervural de grande e pequeno porte e internervural. Os tricomas encontrados são cilíndricos, possuem base levemente mais larga que o ápice, afilam-se gradativamente até um ápice fino, possuem parede celular espessa, cutícula ornamentada, apresentam região em meia esfera na base. Alguns poucos são unicelulares, os outros são bicelulares com uma célula pequena na base e outra longa que se estende até o ápice, sendo a ornamentação mais visível e a parede celular mais espessa na célula da base por microscopia de luz (Figura 6 g, j). Em 7.2 são vistos tricomas tectores cônicos e pequenos, quando comparados aos de 7.1, presentes somente sobre as regiões nervurais em ambas as faces. Os tricomas de 7.2 foram visualizados somente por MEV, devido à baixa quantidade presente (Figura 6 h, k). Uma comparação entre as duas amostras de *P. edulis* f. *edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa* é apresentada na Figura 9.

As células epidérmicas adjacentes aos tricomas apresentaram-se iguais às demais células da epiderme ou em formato de roseta, variando de acordo com a espécie ou tipo de tricoma. Em *P. capsularis* as células epidérmicas adjacentes aos dois tipos de tricomas encontrados apresentam-se em forma de roseta, sendo que em alguns tricomas do primeiro tipo, as células adjacentes em roseta apresentam-se elevadas em relação ao plano onde as demais células epidérmicas são encontradas. *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia* e *P. coccinea* também possuem células adjacentes em forma de roseta em ambas as faces. *Passiflora setacea* apresenta rosetas elevadas em relação ao plano onde as demais células epidérmicas são encontradas, nos tricomas da face adaxial. Estrela-do-cerrado apresenta rosetas na face adaxial, Rubiflora e Roseflora apresentam esse arranjo celular em ambas as faces. *P. edulis* f. *edulis* 7.1 mostrou células epidérmicas adjacentes aos tricomas iguais às demais células da epiderme. Um exemplo é mostrado na Figura 7 b, onde a seta mostra células arranjadas em roseta em *P. urnifolia*.

Somente *P. alata* e *P. incarnata* mostraram-se anfiestomáticas, sendo, contudo, raros os estômatos vistos na face adaxial (Figura 4 b, h). Todas as demais amostras estudadas são hipoestomáticas (Figuras 4, 5).

Quanto à localização dos estômatos em relação às demais células epidérmicas, a maioria apresentou-se superficial, no mesmo nível das células comuns, alguns foram encontrados levemente acima ou abaixo das demais células, sendo classificados como salientes ou em depressão, respectivamente. Os estômatos foram superficiais em *P. actinia*, *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. coccinea*; superficiais com alguns levemente em depressão em *P. amethystina*, *P. morifolia* e *P. urnifolia*; superficiais e levemente salientes em *P. capsularis*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, *P. setacea* e nos três híbridos; levemente salientes em *P. incarnata*.

No que diz respeito ao número de células subsidiárias, os estômatos das amostras analisadas de *Passiflora* foram classificados em anomocíticos, anisocíticos e paracíticos. Foram vistos essencialmente estômatos anomocíticos em *P. actinia*. Em *P. alata*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, nos híbridos Rubiflora e Roseflora e na face abaxial de *P. incarnata* foram vistos estômatos dos três tipos encontrados. Na face adaxial de *P. incarnata* os estômatos vistos foram todos do tipo anisocítico. Os estômatos de *P. morifolia* e *P. urnifolia* foram essencialmente anomocíticos sendo, todavia, vistos raros anisocíticos. Em *P. coccinea* e em Estrela-do-cerrado foram vistos os três tipos, com raros anisocíticos. Em *P. setacea* também foram encontrados os três tipos de estômatos, com raros paracíticos.

P. actinia apresentou a singularidade de possuir papilas distribuídas por toda a face abaxial da epiderme (Figuras 5 a, 10 a). *P. coccinea*, *P. setacea* e os três híbridos mostraram algumas papilas na face abaxial da epiderme que cobre as regiões das nervuras de médio porte (Figura 12 k, l, m, n, o).

O formato das células epidérmicas em vista transversal variou do tabular, com células ligeiramente alongadas no sentido periclinal (diâmetro periclinal maior que o anticlinal), ao isodiamétrico na grande maioria das amostras. *P. capsularis*, contudo, mostrou células epidérmicas com formato diferenciado, sendo grandes e arredondadas na face adaxial. Na face abaxial também são vistas algumas células redondas, entretanto, de tamanho geralmente inferior quando comparadas às da face adaxial (Figura 11).

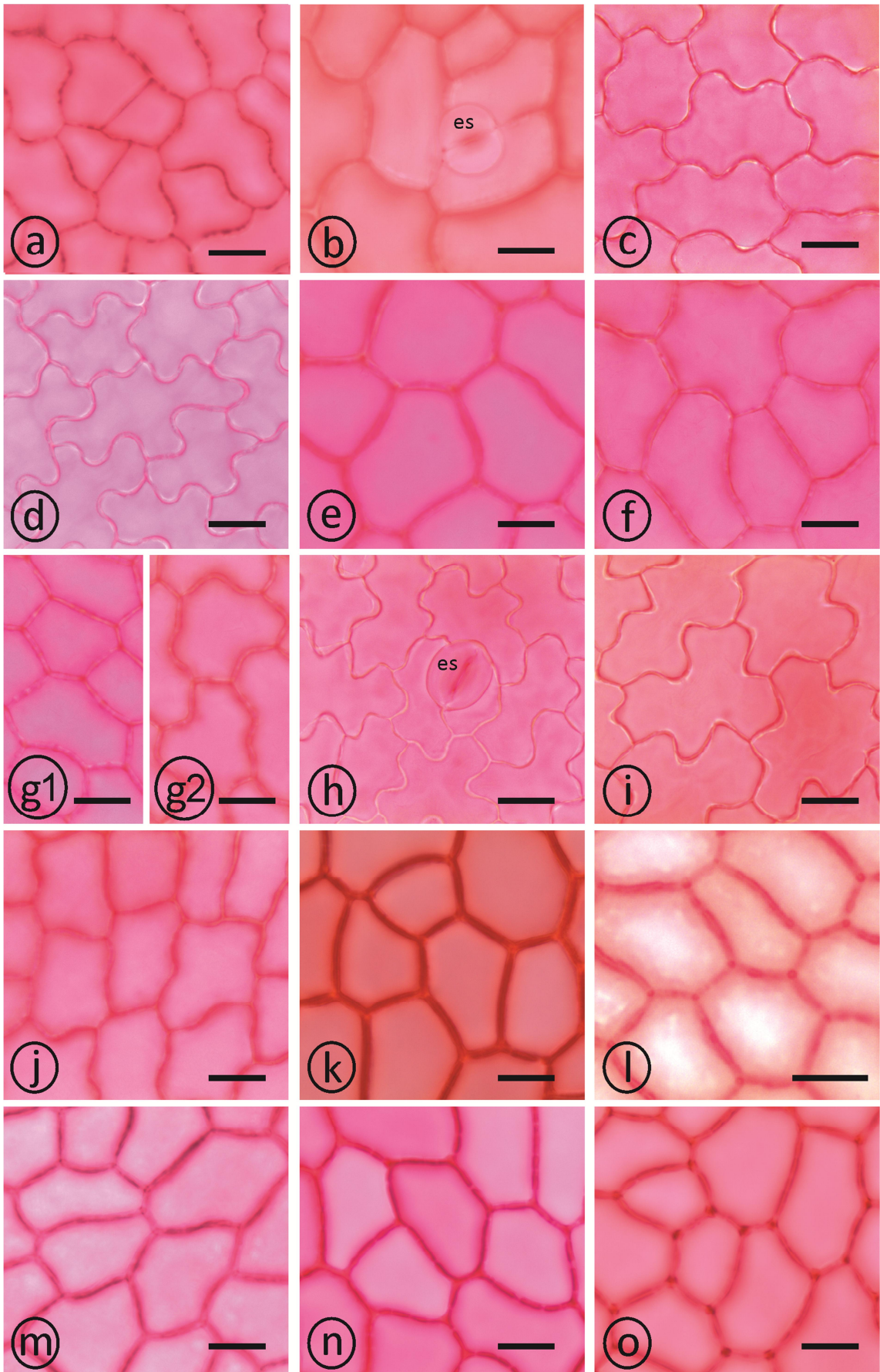


Figura 4. Epidermes foliares em vista frontal. Faces adaxiais. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g1. *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.1; g2. *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.2; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. es: estômato. Barras = 20 μ m.

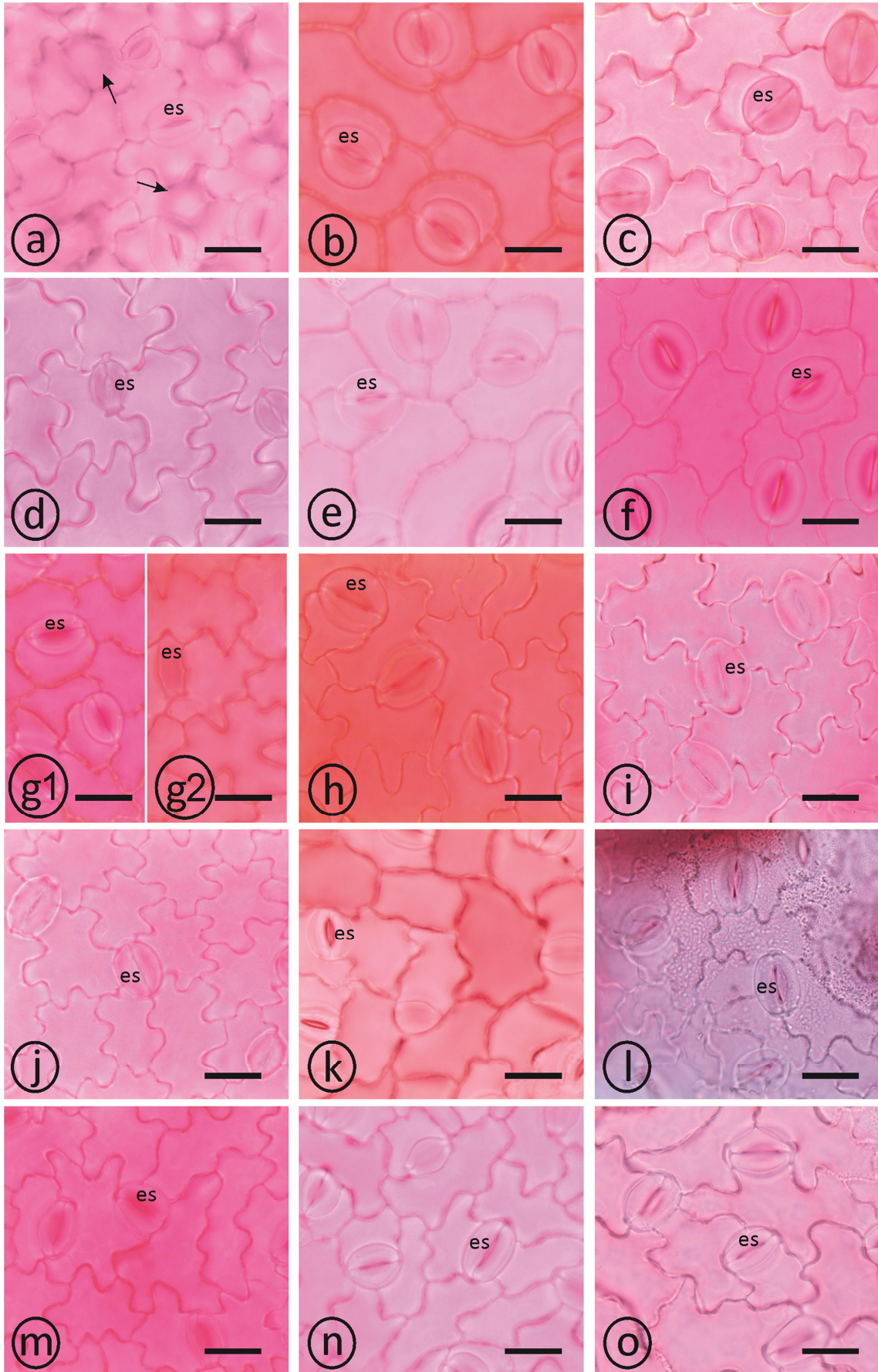


Figura 5. Epidermes foliares em vista frontal. Faces abaxiais. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g1. *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.1; g2. *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.2; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. es: estômato; seta: papila. Barras = 20 μ m.

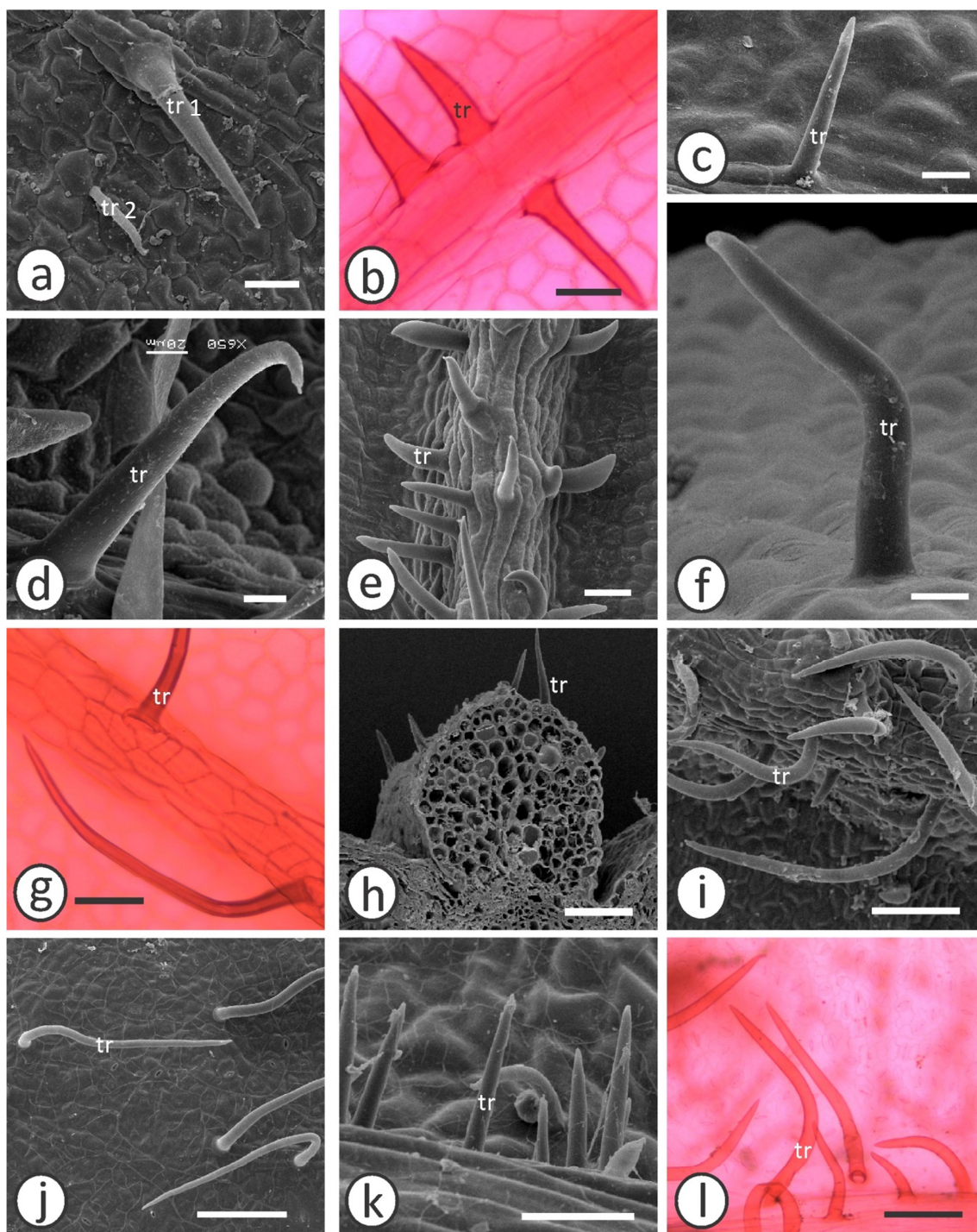


Figura 6. Tricomas tectores. a, d. *P. capsularis*, a. face adaxial, d. face abaxial; b, e. *P. cincinnata*, faces adaxiais; c, f. *P. edulis* f. *flavicarpa*, c. face abaxial, f. face adaxial da nervura central; g, j. *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.1, g. face adaxial, j. face abaxial; h, k. *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.2, h. face adaxial da nervura central, k. face abaxial da nervura central; i, l. *P. incarnata*, i. face adaxial, j. face abaxial. tr: tricoma; tr 1: tricoma do tipo 1; tr 2: tricoma do tipo 2. Barras = 10 μ m (f), 20 (c), 50 (a, b, e, g, k), 100 (h, j, l).

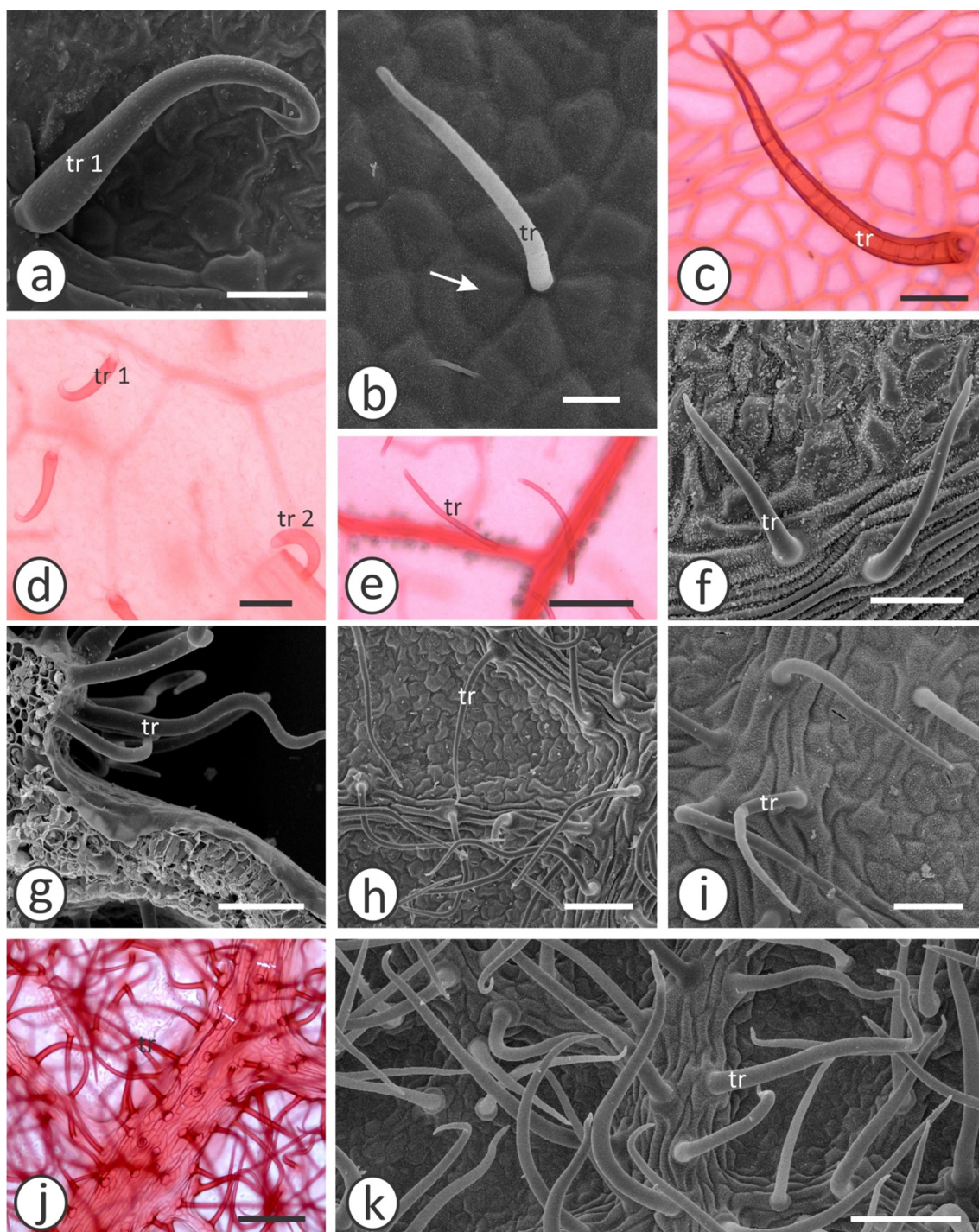


Figura 7. Tricomas tectores. a, d. *P. morifolia*, a. face adaxial, d. face abaxial; b, e. *P. urnifolia*, b. face adaxial, e. face abaxial; c, f. *P. coccinea*, c. face adaxial, f. face abaxial; g, j. *P. setacea*, g. face adaxial da nervura central, j. face abaxial; h. Estrela-do-cerrado, face abaxial; i. Rubiflora, face abaxial; k. Roseflora, face abaxial. tr: tricoma; tr 1: tricoma tipo 1; tr 2: tricoma tipo 2; seta: arranjo das células adjacentes aos tricomas em formato de roseta. Barras = 20 μ m (a, b), 50 (c, d, f, i), 100 (e, g, h, k), 200 (j).

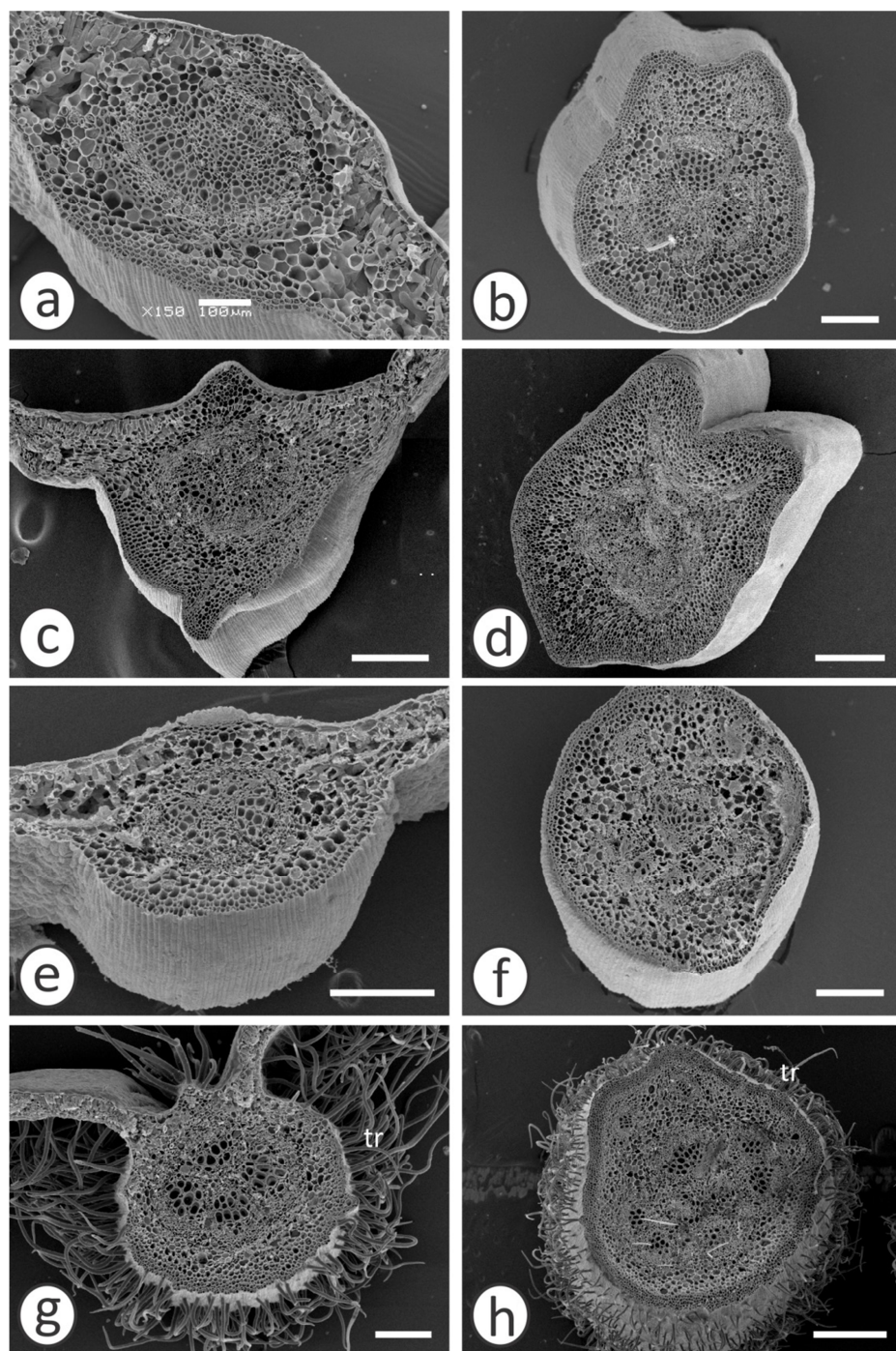


Figura 8. Espécies glabras comparadas à *P. setacea*. *P. actinia*, a. nervura central, b. pecíolo; *P. alata*, c. nervura central, d. pecíolo; *P. amethystina*, e. nervura central, f. pecíolo; *P. setacea*: alta densidade de tricomas tectores, g. nervura central, h. pecíolo. tr: tricoma. Barras = 100 μ m (a), 200 (b, c, e, f, g), 500 (d, h).

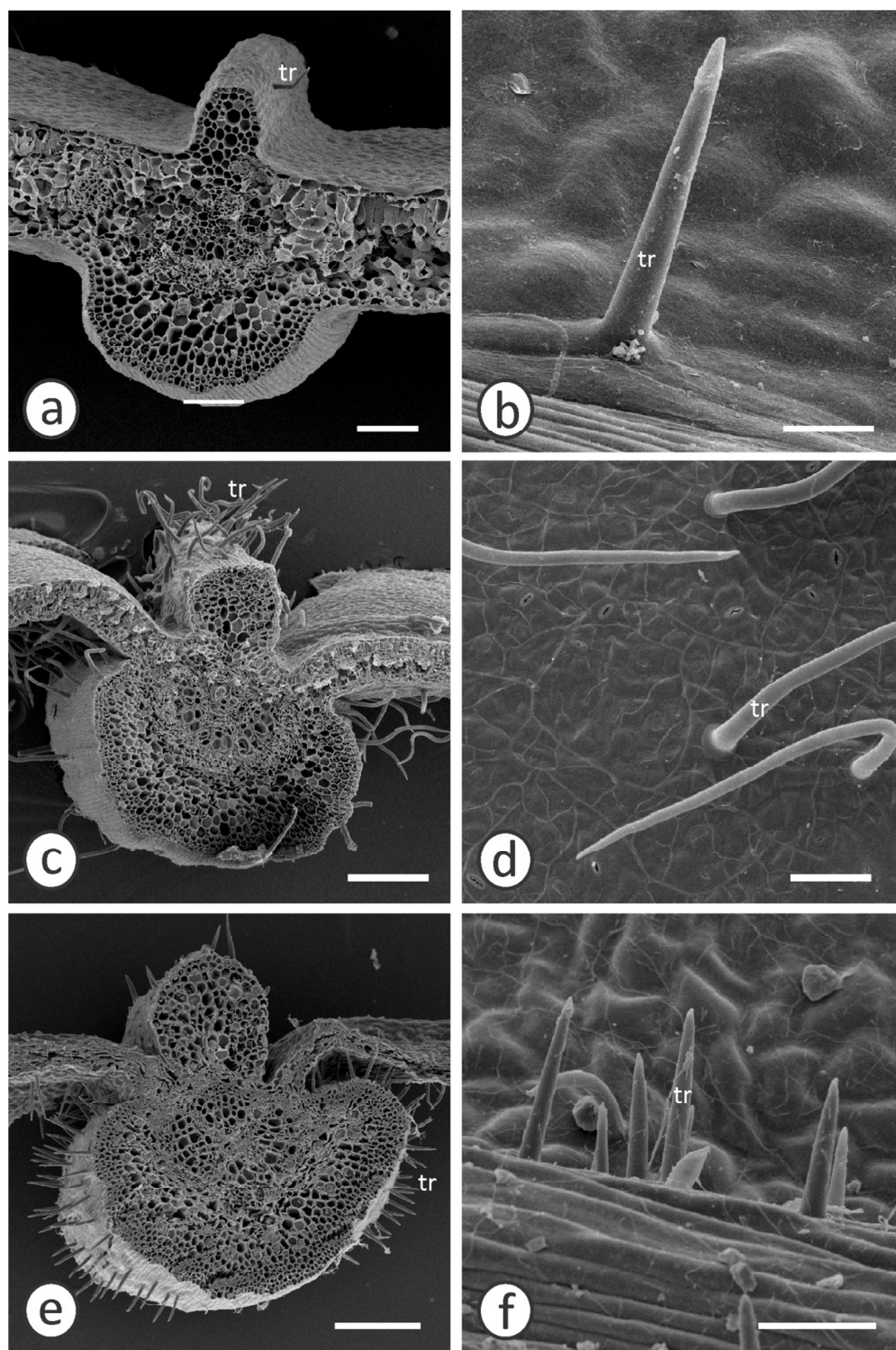


Figura 9. *P. edulis*, diferença entre tricomas. *P. edulis* f. *flavicarpa*: tricomas tectores cônicos muito raros, a. nervura central, b. face abaxial; *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.1: tricomas tectores cilíndricos, c. nervura central, d. face abaxial; *P. edulis* f. *edulis* amostra 7.2: tricomas tectores cônicos, e. nervura central, f. face abaxial. tr: tricoma. Barras = 20 μ m (b), 50 (f), 100 (a, d), 200 (c, e).

5.1.1.2 Limbo foliar

A organização do mesofilo foliar foi dorsiventral, com a presença de parênquima paliádico (PP) na face adaxial e parênquima lacunoso (PL) na face abaxial, para todas as amostras estudadas. Da mesma forma, todas as amostras exibiram apenas uma camada de parênquima paliádico. Algumas espécies apresentaram um número menor de camadas de parênquima lacunoso (*P. amethystina*: 3-6, *P. capsularis*: 3-4, *P. morifolia* e *P. setacea*: 3-5), *P. alata* mostrou um número maior: 7-10 e as demais mostraram números de camadas intermediários (Figura 10).

Os dois tipos de parênquimas clorofilianos presentes podem ser descritos de diferentes formas de acordo com a espécie. Em *P. actinia* o PP é relativamente frouxo e o PL frouxo, com vários meatos, lacunas e células irregulares. Em *P. alata* o PL possui células irregulares e maior espessura que o PP. Em *P. amethystina* PP e PL possuem a mesma espessura, PL apresenta células irregulares. *P. capsularis* possui PP com células largas e de comprimento variável de acordo com a amostra (4.1-4.3 exibiu células maiores e 4.4, células menores), o PL possui pequena espessura e células de formato arredondado. Por outro lado, *P. cincinnata* possui PP típico, PL compacto e com células irregulares. Em *P. edulis* f. *flavicarpa*, 6.1 apresentou PP e PL com a mesma espessura, as demais amostras possuem PL de maior espessura que o PP, todas têm PL com células irregulares. Em *P. edulis* f. *edulis* também foram vistas diferenças entre as amostras, já que 7.1 possui PP mais longo que 7.2. *P. incarnata* possui PP e PL de mesma espessura, PP com células justapostas e PL frouxo. *P. morifolia* possui PL estreito e geralmente menos espesso que o PP, o qual ocupa cerca de 2/3 do mesofilo. *P. urnifolia*, *P. coccinea* e *P. setacea* possuem PP e PL de mesma espessura. Da mesma forma, os três híbridos possuem PP e PL com aproximadamente a mesma espessura, PP com células justapostas e PL frouxo (Figura 10).

Os feixes vasculares secundários de todas as amostras estudadas foram do tipo colateral (apresentando floema de um lado e xilema do outro).

Calotas esclerenquimáticas foram encontradas em *P. actinia* apostas ao floema e ao xilema, o que, todavia, não ocorre em todos os feixes. Em *P. alata* e *P. coccinea* foram encontradas calotas apostas somente ao floema, as quais, contudo, não são observadas em todos os feixes de *P. alata*. Rubiflora e Roseflora apresentaram calota abaixo do floema e do xilema (com células menos espessadas) em alguns casos. *P. urnifolia* foi o diferencial nesse parâmetro, apresentando um grande feixe de células esclerenquimáticas em diferentes estágios de lignificação situadas no centro do feixe vascular (Figuras 10 j, 12 j).

Em todas as espécies e híbridos analisados observou-se a presença de bainha parenquimática envolvendo o feixe vascular (Figura 12).

As nervuras de médio porte de algumas espécies ocasionam a formação de saliências e/ou depressões nas faces adaxial ou abaxial do limbo foliar, o que não ocorre para as espécies *P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina* e *P. edulis* f. *flavicarpa*. Em *P. cincinnata*, *P. incarnata* e *P. morifolia* uma leve convexidade é observada na face abaxial. Em *P. edulis* f. *edulis* uma leve convexidade é observada nas faces adaxial e abaxial apostas às nervuras de médio porte. Em *P. capsularis*, *P. urnifolia*, *P. coccinea* e nos três híbridos, uma convexidade mais acentuada pode ser vista na face abaxial na região de tais feixes vasculares. *P. setacea* foi a única espécie a apresentar convexidade na face abaxial associada a uma concavidade na face adaxial, como

pode ser visto na Figura 12. A formação de tais saliências e depressões, entretanto, ocorre somente nas nervuras de médio porte, não sendo observadas nas nervuras de pequeno porte.

Cristais do tipo drusas foram vistos em todas as amostras com exceção de *P. morifolia*. A localização dessas drusas também sofreu variações de acordo com as espécies. Foram encontradas na bainha parenquimática envolvendo os feixes vasculares na maioria das espécies: *P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, *P. incarnata*, *P. urnifolia* e *P. setacea*. Em Estrela-do-cerrado e Rubiflora drusas foram vistas na bainha parenquimática e no parênquima paliçádico. Em *P. coccinea* e Roseflora, esses cristais foram vistos somente no parênquima paliçádico. Em *P. edulis* f. *flavicarpa*, contudo, as drusas foram observadas no limbo somente da amostra 6.1.

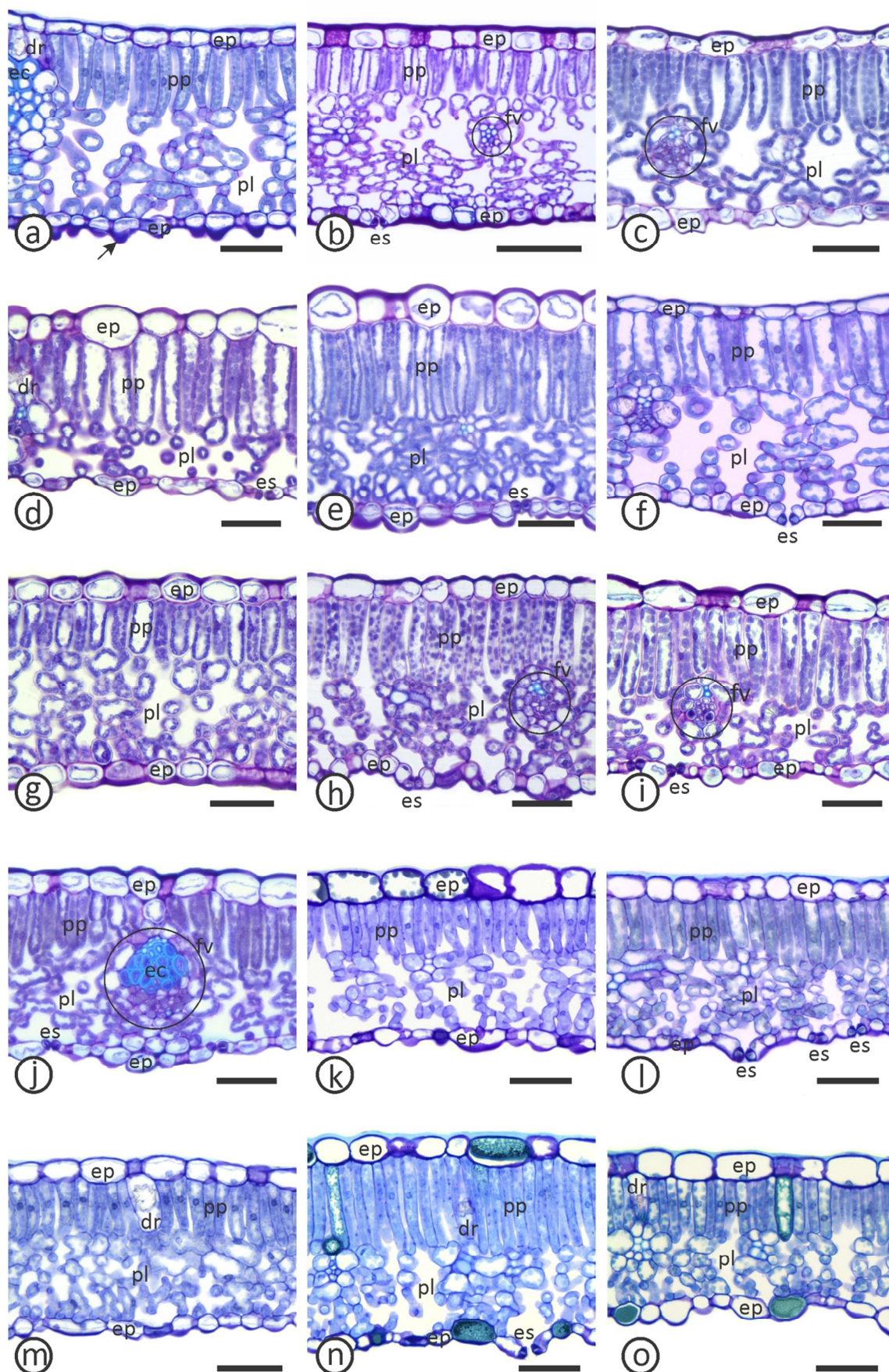


Figura 10. Limbos foliares em secção transversal. Organização dorsiventral. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g. *P. edulis* f. *edulis*; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. ep: epiderme; pp: parênquima paliçácido; pl: parênquima lacunoso; fv: feixe vascular; dr: drusa; ec: esclerênquima; es: estômato; seta: papila. Barras = 50 μm (a, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o), 100 (b).

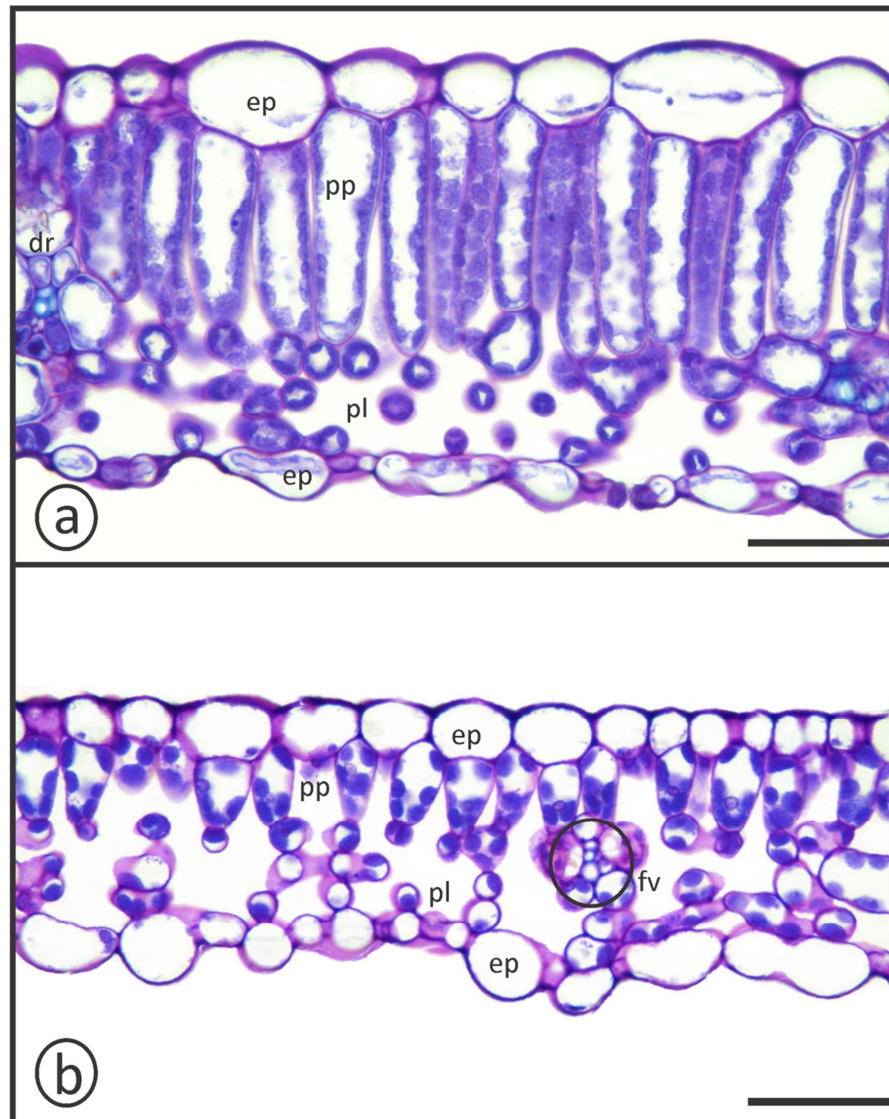


Figura 11. *Passiflora capsularis*. Limbo foliar. Diferenças de espessura do limbo foliar e do parênquima paliçádico. a. amostra 4.2; b. amostra 4.4. ep: epiderme; pp: parênquima paliçádico; pl: parênquima lacunoso; fv: feixe vascular. Barras = 50 µm.

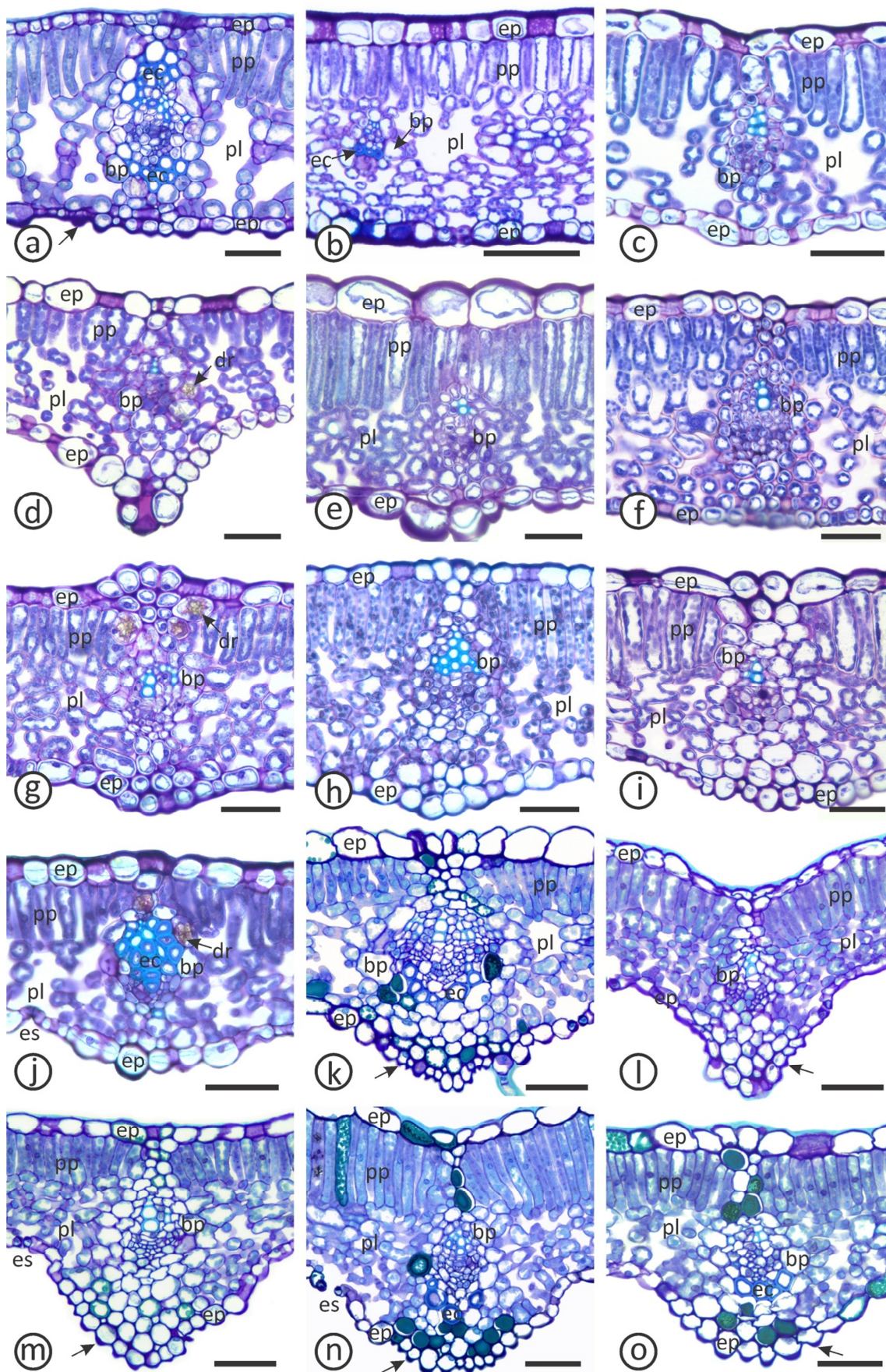


Figura 12. Limbos foliares em secção transversal, nervuras de médio porte. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g. *P. edulis* f. *edulis*; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. ep: epiderme; pp: parênquima paliçádico; pl: parênquima lacunoso; es: estômato; bp: bainha parenquimática; ec: esclerênquima; dr: drusa; seta: papila. Barras = 50 μ m (a, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o), 100 (b).

5.1.1.3 Nervura central

Como pode ser facilmente observado na Figura 13, as nervuras centrais das diferentes espécies apresentaram formatos bastante variados, que podem ser classificados como biconvexo para todas as amostras, exceto para *P. urnifolia*, que possui formato plano-convexo. Uma breve descrição do formato das nervuras principais de cada espécie pode ser visto no Quadro 4.

Quadro 4. Descrição simplificada do formato das nervuras principais de cada espécie e híbridos de *Passiflora* avaliados.

<i>P. actinia</i>	Formato biconvexo com convexidade mais proeminente na face abaxial, a qual se apresenta arredondada
<i>P. alata</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando pequena convexidade e face abaxial, convexidade conspícua e angulosa
<i>P. amethystina</i>	Formato biconvexo com convexidade mais proeminente na face abaxial, que se apresenta arredondada
<i>P. capsularis</i>	Formato biconvexo com convexidade mais proeminente na face abaxial. Face abaxial achatada, conferindo à nervura formato triangular. A epiderme em ambas as faces pode apresentar projeções irregulares e tricomas tectores
<i>P. cincinnata</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída unicamente por uma camada de epiderme e sete à nove camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente e arredondada
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção com formato cilíndrico constituída por uma camada de epiderme e sete a quatorze camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente e arredondada, conferindo formato ovalado à nervura
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção com formato cilíndrico constituída por uma camada de epiderme e sete a quatorze camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente e arredondada, conferindo formato ovalado à nervura
<i>P. incarnata</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída por uma camada de epiderme e sete a oito camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente e levemente achatada, conferindo formato semelhante ao triangular à nervura
<i>P. morifolia</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída por uma camada de epiderme e sete a oito camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente podendo apresentar pequenas projeções e tricomas tectores
<i>P. urnifolia</i>	Formato plano-convexo (faces adaxial e abaxial, respectivamente) Convexidade acentuada na face abaxial conferindo formato em "U" para a nervura. Apresenta uma leve saliência na face adaxial devido a um agrupamento de células colenquimáticas
<i>P. coccinea</i>	Formato biconvexo com convexidade mais proeminente na face abaxial que se apresenta arredondada podendo apresentar tricomas tectores
<i>P. setacea</i>	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída por uma camada de epiderme e cerca de dez camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente, formato arredondado, apresentando pequenas projeções e tricomas tectores

Estrela-do-cerrado	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída por uma camada de epiderme e cerca de dez camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente, formato arredondado, apresentando pequenas projeções e tricomas tectores
Rubiflora	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída por uma camada de epiderme e cerca de dez camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente, formato arredondado, apresentando tricomas tectores
Roseflora	Formato biconvexo com face adaxial apresentando projeção aguda constituída por uma camada de epiderme e cerca de dez camadas de colênquima. Face abaxial com convexidade mais proeminente e formato arredondado, apresentando tricomas tectores

Os feixes vasculares de todas as espécies foram classificados como colaterais. O arranjo desses feixes vasculares na nervura central apresenta-se brevemente descrito no Quadro 5.

Não foi observada a presença de bainha parenquimática. Do contrário, células esclerenquimáticas foram vistas em algumas espécies. *P. actinia* pode possuir células esclerenquimáticas organizadas em uma calota aposta ao floema e livres próximas ao xilema. Do mesmo modo, *P. alata* pode apresentar células esclerenquimáticas apostas ao floema. Em *P. urnifolia*, foi observada bainha esclerenquimática aposta ao floema voltado para a face abaxial da nervura. Em *P. coccinea* pode ser vista calota esclerenquimática aposta ao floema do feixe dorsal. Assim como em *P. coccinea*, também foram encontradas células esclerenquimáticas nos híbridos estudados. Em Estrela-do-cerrado, algumas células isoladas podem ser encontradas apostas ao floema dos feixes voltados à face abaxial. Em Rubiflora e em Roseflora, pode ser vista uma calota esclerenquimática aposta ao floema do feixe dorsal, sendo que em Rubiflora algumas células isoladas podem ser encontradas apostas ao floema dos demais feixes. Já em Roseflora são vistas células apostas ao floema dos feixes vasculares voltados para a face abaxial no sentido de formar uma bainha esclerenquimática voltada para essa face (Figura 13).

Observou-se a presença de colênquima em ambas as faces de todas as amostras estudadas, exceto em Roseflora, que exibiu colênquima apenas na face adaxial (Figura 13). Os colênquimas foram classificados como angular em ambas as faces para todas as amostras, como pode ser visto no Quadro 6. No Quadro 6 também podem ser vistos o número de camadas de colênquima encontrado, assim como a localização das drusas, presentes em todas as amostras.

Quadro 5. Descrição simplificada do arranjo dos feixes vasculares das nervuras centrais de cada espécie e híbridos de *Passiflora* avaliados.

<i>P. actinia</i>	Um arco fletido formado por três feixes mais um feixe dorsal, arranjos em um anel vascular central
<i>P. alata</i>	Um arco fletido mais um feixe dorsal, arranjos em um anel vascular central
<i>P. amethystina</i>	Um arco fletido formado por três feixes mais um feixe dorsal, arranjos em um anel vascular central
<i>P. capsularis</i>	Um feixe em arco mais um feixe dorsal de menor porte, arranjos em um anel vascular com pequena região medular
<i>P. cincinnata</i>	Um arco fletido formado por três feixes, um feixe dorsal e um lateral
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Quatro feixes arranjos em um anel vascular central

<i>P. edulis f. edulis</i>	Quatro feixes arranjados em um anel vascular central
<i>P. incarnata</i>	Um arco fletido formado por três feixes mais um feixe dorsal, arranjados em um anel vascular central
<i>P. morifolia</i>	Um feixe em arco fletido e um feixe dorsal arranjados em um anel vascular com pequena região medular
<i>P. urnifolia</i>	Feixes em forma de arco fechado, com pequena região medular
<i>P. coccinea</i>	Cerca de cinco feixes organizados em um arco fletido mais um feixe dorsal, arranjados em um anel vascular central
<i>P. setacea</i>	Quatro feixes arranjados em um círculo com inserção a cerca de 90 graus um do outro
Estrela-do-cerrado	Cerca de quatro feixes em arco fletido mais um feixe dorsal, arranjados em um anel vascular central
Rubiflora	Cerca de seis feixes em arco fletido mais um feixe dorsal, arranjados em um anel vascular central
Roseflora	Cerca de cinco feixes em arco fletido mais um feixe dorsal, arranjados em um anel vascular central

Quadro 6. Características das nervuras centrais das espécies e híbridos analisados. Classificação e número de camadas do colênquima e localização das drusas.

NERVURA CENTRAL		<i>P. actinia</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. amethystina</i>	<i>P. capsularis</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. edulis fo. flavicarpa</i>	<i>P. edulis fo. edulis</i>	<i>P. incarnata</i>	<i>P. morifolia</i>	<i>P. urnifolia</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. setacea</i>	Estrela-do-cerrado	Rubiflora	Roseflora
Colênquima	Angular	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	n. de camadas na face adaxial	~5	~10	~6	3-5	7-9	7-14	8-12	7-8	6-8	5-7	6-8	~10	~10	~10	~10
	n. de camadas na face abaxial	~3	~3	1-2	1-2	1-2	2-4	2-5	1-2	1-2	1-3	1-3	1-2	~1	1-3	
Drusas	no parênq. fund.	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x
	no floema	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	no colênquima		x													

AB – abaxial; AD – adaxial; n. de camadas – número de camadas; parênq. fund.- parênquima fundamental.

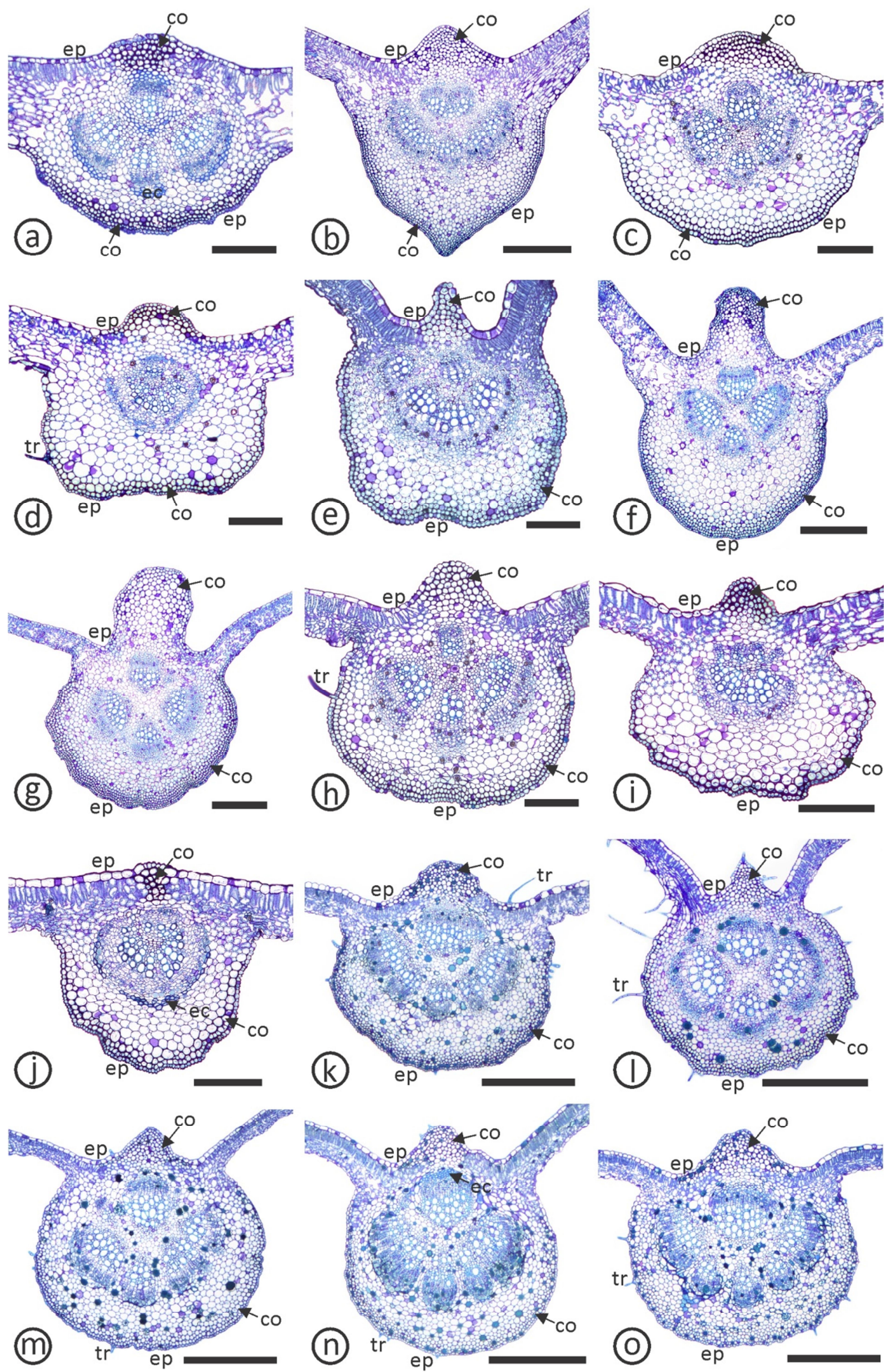


Figura 13. Nervuras centrais em secção transversal. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g. *P. edulis* f. *edulis*; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. ep: epiderme; co: colênquima; ec: esclerênquima; tr: tricoma. Barras = 200 μ m (a, c, d, e, h, i, j), 500 (b, f, g, k, l, m, n, o).

5.1.1.4 Pecíolo

Como pode ser visto na Figura 14, os pecíolos das diferentes espécies e híbridos de *Passiflora* avaliados possuem formatos distintos. Seu contorno variou de plano-convexo a côncavo-convexo. Uma breve descrição dos formatos encontrados é apresentada no Quadro 7.

Quadro 7. Descrição simplificada do formato dos pecíolos de cada espécie e híbridos de *Passiflora* avaliados.

Espécie/híbrido	Contorno	Descrição do formato
<i>P. actinia</i>	plano-convexo a côncavo-convexo	Face abaxial convexa e adaxial achatada a levemente côncava
<i>P. alata</i>	côncavo-convexo	Face adaxial côncava com duas projeções acentuadas, uma em cada extremidade. Face abaxial convexa com uma projeção aguda central
<i>P. amethystina</i>	plano-convexo	Praticamente circular com a face adaxial levemente achatada
<i>P. capsularis</i>	plano-convexo	Aproxima-se do circular com a face abaxial convexa e adaxial plana
<i>P. cincinnata</i>	côncavo-convexo	Face adaxial levemente côncava com duas pequenas projeções, uma em cada extremidade. Face abaxial convexa. Formato praticamente pentagonal
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	côncavo-convexo	Face adaxial côncava com duas projeções acentuadas, uma em cada extremidade. Face abaxial convexa mais acentuada na região central
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	côncavo-convexo	Face adaxial côncava com duas projeções acentuadas, uma em cada extremidade. Face abaxial convexa e arredondada
<i>P. incarnata</i>	côncavo-convexo	Face adaxial côncava com três leves projeções, sendo a central achatada. Face abaxial convexa e arredondada. Possui tricomas tectores anexados à epiderme
<i>P. morifolia</i>	plano-convexo	Face adaxial plana. Face abaxial convexa e arredondada. Epiderme com algumas projeções e tricomas tectores anexados
<i>P. urnifolia</i>	plano-convexo a côncavo-convexo	Face abaxial convexa e adaxial plana a levemente côncava
<i>P. coccinea</i>	côncavo-convexo	Face adaxial côncava com duas projeções acentuadas, uma em cada extremidade. Face abaxial convexa e arredondada. Epiderme com tricomas tectores anexados
<i>P. setacea</i>	plano-convexo	Face abaxial convexa e adaxial mais estreita e achatada conferindo formato praticamente oval ao pecíolo. Epiderme com tricomas tectores em anexo
Estrela-do-cerrado	plano-convexo	Face abaxial convexa e adaxial achatada. Epiderme com tricomas tectores multicelulares em anexo
Rubiflora	plano-convexo à côncavo-convexo	Face abaxial convexa e adaxial praticamente plana. Epiderme com tricomas tectores em anexo
Roseflora	plano-convexo	Face abaxial convexa e adaxial mais estreita e achatada. Epiderme com tricomas tectores multicelulares em anexo

Todas as amostras avaliadas possuem epiderme unisseriada. Igualmente, todas possuem feixes vasculares do tipo colateral, em número e arranjo que variou entre as amostras estudadas. A descrição do arranjo para cada uma é encontrada no Quadro 8.

Quadro 8. Descrição do arranjo dos feixes vasculares dos pecíolos de cada espécie e híbridos de *Passiflora* avaliados.

<i>P. actinia</i>	Cerca de cinco feixes vasculares livres em arco fletido, um feixe de maior porte localizado dorsalmente e dois feixes laterais
<i>P. alata</i>	Aproximadamente oito feixes vasculares livres formando um anel central, contendo um feixe vascular medular e dois feixes nas duas projeções adaxiais
<i>P. amethystina</i>	Cinco feixes vasculares livres em arco fletido, um feixe de maior porte localizado dorsalmente e dois feixes laterais
<i>P. capsularis</i>	Três feixes vasculares livres em arco fletido, um feixe de maior porte localizado dorsalmente e dois feixes laterais
<i>P. cincinnata</i>	Cerca de sete feixes vasculares livres em arco fletido, um feixe de maior porte localizado dorsalmente e dois feixes laterais
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Aproximadamente sete feixes livres dispostos em arco fletido, um feixe dorsal e dois feixes localizados nas projeções adaxiais
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	Aproximadamente nove feixes livres dispostos em arco fletido, um a dois feixes dorsais e dois feixes localizados nas projeções adaxiais
<i>P. incarnata</i>	Cinco feixes livres dispostos em “U” e um feixe dorsal
<i>P. morifolia</i>	Três feixes livres em arco fletido, um feixe dorsal e dois feixes laterais
<i>P. urnifolia</i>	Três feixes livres em arco fletido, um feixe dorsal e dois feixes laterais
<i>P. coccinea</i>	Cerca de oito feixes vasculares livres em “U”, um feixe dorsal e dois feixes, um em cada projeção adaxial
<i>P. setacea</i>	Cerca de seis feixes vasculares organizados em anel, dois ou três feixes medulares e dois feixes próximos das extremidades na face adaxial
Estrela-do-cerrado	Cerca de oito feixes vasculares organizados em anel, dois feixes medulares de pequeno porte e dois feixes próximos das extremidades na face adaxial
Rubiflora	Cerca de oito feixes vasculares organizados em anel, dois feixes medulares de pequeno porte e dois feixes próximos das extremidades na face adaxial
Roseflora	Aproximadamente cinco feixes livres dispostos em arco fletido, um feixe dorsal e dois feixes próximos das extremidades na face adaxial

Uma região colenquimática é encontrada logo abaixo da epiderme, em forma de anel contínuo, em todas as amostras analisadas (Figura 14). Assim como nas nervuras centrais, o colênquima é classificado como angular para todas as amostras. O número de camadas encontradas em cada espécie e híbrido pode ser visto no Quadro 9.

Cristais do tipo drusas são vistos em todas as amostras, distribuídos, como pode ser visto no Quadro 9, pelo parênquima fundamental, floema e/ou colênquima.

Quadro 9. Características dos pecíolos das espécies e híbridos estudados. Classificação e número de camadas do colênquima e localização das drusas.

PECÍOLO		<i>P. actinia</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. amethystina</i>	<i>P. capsularis</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. edulis f. flavicarpa</i>	<i>P. edulis f. edulis</i>	<i>P. incarnata</i>	<i>P. morifolia</i>	<i>P. urnifolia</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. setacea</i>	Estrela-do-cerrado	Rubiflora	Roseflora
Colênquima	Angular	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	n. de camadas	~3	4-7	2-3	1-2	2-4	2-5	4-7	1-2	1-3	2-5	3-5	4-5	2-5	4-5	4-5
Drusas	no parênq. fund.	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x
	no floema		x	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x	x
	no colênquima		x	x			x									x

parenq. fund. – parênquima fundamental; n. de camadas – número de camadas.

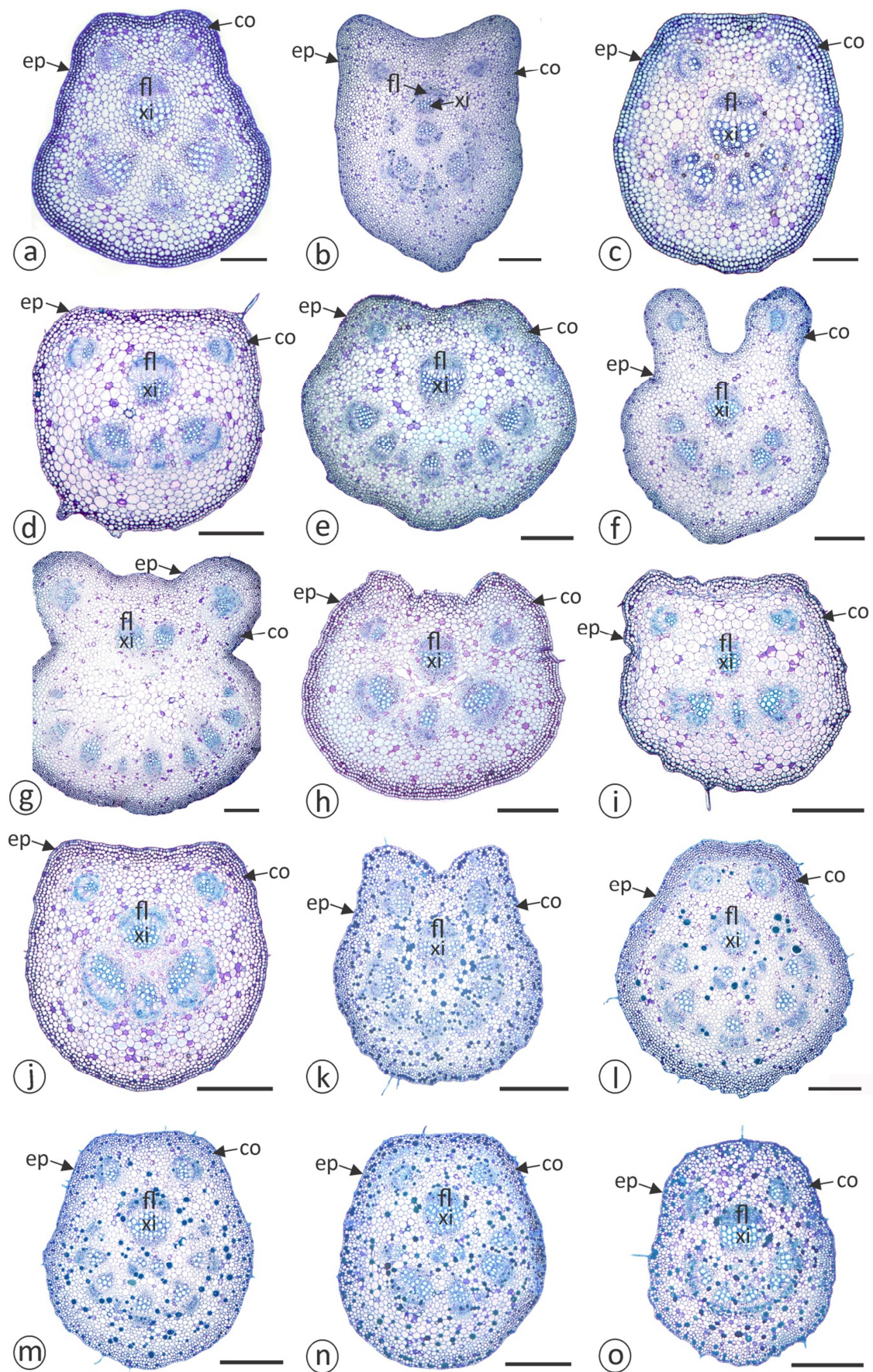


Figura 14. Pecíolos em secção transversal. a. *P. actinia*; b. *P. alata*; c. *P. amethystina*; d. *P. capsularis*; e. *P. cincinnata*; f. *P. edulis* f. *flavicarpa*; g. *P. edulis* f. *edulis*; h. *P. incarnata*; i. *P. morifolia*; j. *P. urnifolia*; k. *P. coccinea*; l. *P. setacea*; m. Estrela-do-cerrado; n. Rubiflora; o. Roseflora. ep: epiderme; co: colênquima; fl: floema; xi: xilema; dr: drusa; tr: tricoma. Barras = 200 μm (a, c), 500 (b, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o).

5.1.2 Análise microscópica do pó

O estudo microscópico do pó permitiu identificar determinados caracteres morfoanatômicos previamente visualizados pela microscopia de luz.

Para todas as espécies foi possível observar a presença de drusas, fragmentos de limbo foliar constituído por epiderme uniestratificada em ambas as faces, uma camada de parênquima paliádico e algumas de parênquima lacunoso (organização dorsiventral), colênquima com espessamento angular (Figura 15 c), fragmentos de epiderme de ambas as faces com o contorno das paredes celulares anticlinais como o descrito para a espécie (Figura 15 b, g) e fragmentos de tecido vascular. Nas espécies classificadas como glabras, não foram encontrados tricomas, ao contrário das demais.

Em *P. actinia* na face abaxial da epiderme foliar é possível observar, além de estômatos, numerosas papilas, características da espécie (Figura 15 a). Em *P. capsularis* foram vistos os dois tipos de tricomas descritos.

Em *P. edulis* f. *edulis* foram encontrados tricomas tectores como os descritos. Entretanto, em *P. edulis* f. *flavicarpa* a pequena quantidade de tricomas presentes não permitiu sua visualização. Em *P. incarnata* foram vistos tricomas como os descritos principalmente sobre fragmentos de nervuras.

Os dois tipos de tricomas característicos de *P. morifolia*, um em forma de gancho e outro de tamanho menor e ápice arredondado, foram também detectados no pó das folhas da espécie, livre ou sobre fragmentos de epiderme (Figura 15 d, e).

Em *P. urnifolia* tricomas como os descritos para a espécie foram vistos sobre fragmentos de epiderme ou de nervuras (Figura 15 f).

Em *P. coccinea*, *P. setacea* e em seus híbridos também foram encontrados tricomas tectores como os descritos, livres, sobre fragmentos de epiderme ou de nervuras (Figura 15 i). Em *P. setacea* uma grande quantidade desses anexos epidérmicos é vista no pó (Figura 15 h).

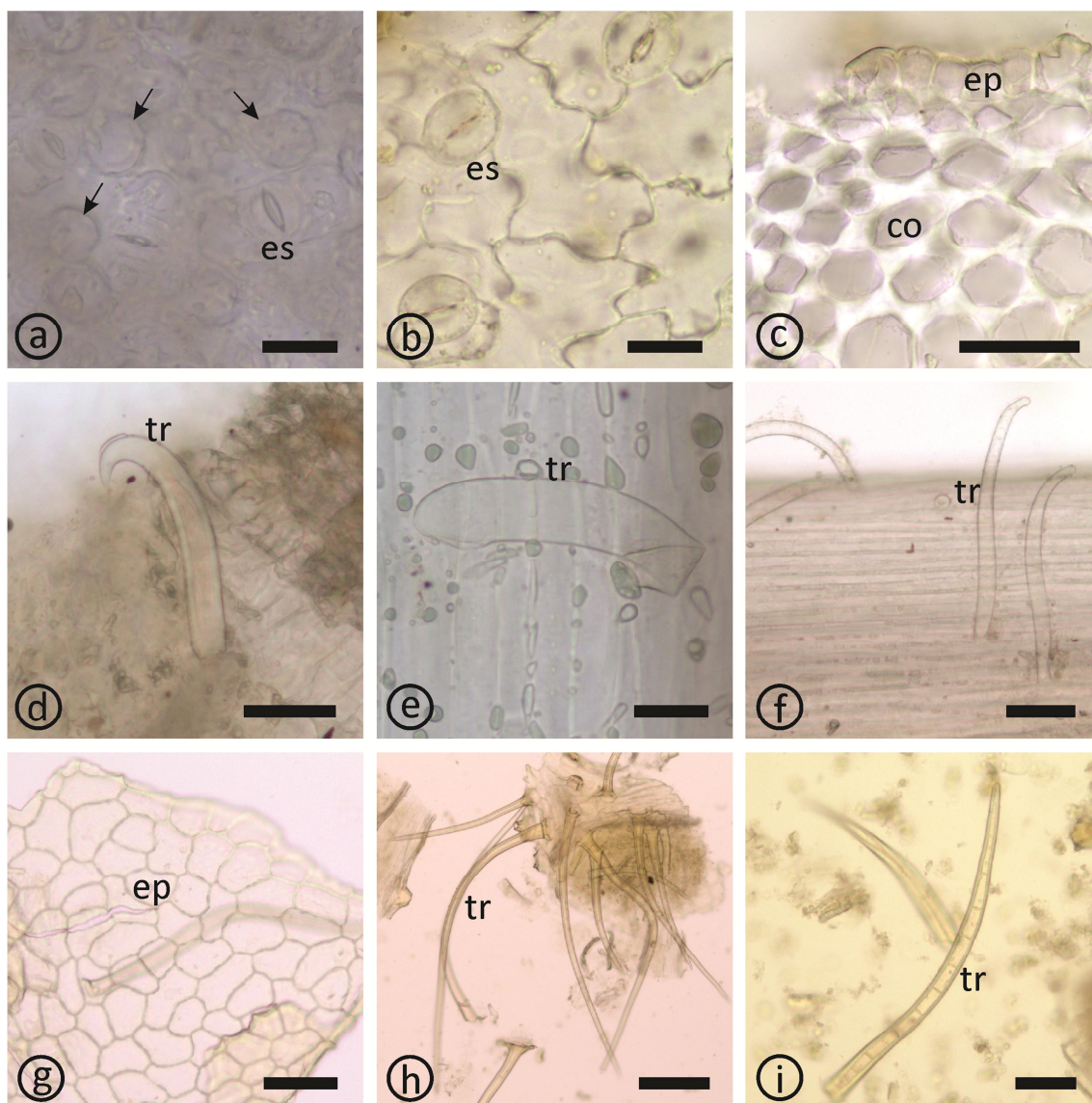










Figura 15. Microscopia do pó. a. *P. actinia*, vista frontal da face abaxial da epiderme, presença de papilas; b. *P. amethystina*, vista frontal da face abaxial da epiderme, paredes celulares anticlinais com contorno sinuoso; c. *P. edulis* f. *edulis*, fragmento de epiderme e colênquima com espessamento angular; d. *P. morifolia*, tricoma tector do tipo 1 (com ápice em gancho); e. *P. morifolia*, tricoma tector do tipo 2 (com ápice arredondado); f. *P. urnifolia*, tricoma tector cilíndrico com ápice arredondado; g. *P. setacea*, vista frontal da face adaxial da epiderme, paredes celulares anticlinais com contorno levemente ondulado; h. *P. setacea*, grupo de tricomas tectores inseridos em um fragmento de nervura; i. Roseflora, tricoma tector multicelular. ep: epiderme; es: estômato; co: colênquima; tr: tricoma; seta: papila. Barras = 20 µm (a, b, e), 50 (c), 100 (d, f, g, i), 200 (h).

5.1.3 Principais características de diferenciação








Um resumo das principais características morfoanatômicas que auxiliam na diferenciação entre as espécies e híbridos de *Passiflora* estudados pode ser visto no Quadro 10.

Quadro 10. Resumo das principais características morfoanatômicas de diferenciação entre as espécies e híbridos estudados.

		<i>P. actinia</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. amethystina</i>	<i>P. capsularis</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>		<i>P. incarnata</i>
								amostra 7.1	amostra 7.2	
Contorno cél. epidérmicas	adaxial	ond.-lev. sin.	reto-lev. ond.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.	reto-lev. ond.	lev. ond - ond.	reto-lev. ond.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.
	abaxial	lev. sin.-sin.	lev. ond - ond.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.	lev. ond - ond.	lev. sin.-sin.	lev. ond - ond.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.
Tricomas tectores	adaxial	glabra	glabra	glabra	1) cônico 2) cilíndrico (ápice arredondado)	glabra	1) cônico	1) cilíndrico (ápice estreito)	1) cônico	1) cilíndrico (ápice estreito)
	abaxial	glabra	glabra	glabra		1) cônico				
Estômatos		hipo	anfi	hipo	hipo	hipo	hipo	hipo		anfi
Papilas na face abaxial da epiderme		internervural								
Cél. esclerenquimáticas no limbo foliar		calotas apostas floema e xilema	calotas apostas ao floema							
Formato das nervuras de médio porte		plano/plano	plano/plano	plano/plano	plano/convexo	plano/lev. convexo	plano/plano	lev. convexo/lev. convexo		plano/lev. convexo
Formato da nervura central										
Arranjo dos feixes na nervura central		3 feixes em arco fletido, 1 dorsal	um arco fletido, 1 feixe dorsal	3 feixes em arco fletido, 1 dorsal	1 feixe em arco fletido, 1 dorsal, medula pequena	3 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 1 lateral	4 feixes em anel	4 feixes em anel		3 feixes em arco fletido, 1 dorsal
Formato do pecíolo		plano-convexo à côncavo-convexo	côncavo-convexo	plano-convexo	plano-convexo	côncavo-convexo	côncavo-convexo	côncavo-convexo		côncavo-convexo
Arranjo dos feixes no pecíolo		5 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	8 feixes em anel, 1 medular, 2 laterais	5 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	3 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	7 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	7 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	9 feixes em arco fletido, 1-2 dorsais, 2 laterais		5 feixes em “U”, 1 dorsal

lev. – levemente; ond. – ondulado; sin. – sinuoso; hipo – hipoestomática; anfi – anfiestomática; cél – células; xil. – xilema.

Quadro 10. Continuação - Resumo das principais características morfoanatômicas de diferenciação entre as espécies e híbridos estudados.

		<i>P. morifolia</i>	<i>P. urnifolia</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. setacea</i>	Estrela-do-cerrado	Rubiflora	Roseflora
Contorno cél. epidérmicas	adaxial	lev. sin.-sin.	lev. ond. - ond	reto-lev. ond.	reto-lev. ond.	reto-lev. ond.	reto-lev. ond.	reto-lev. ond.
	abaxial	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.	ond-lev. sin.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.	lev. sin.-sin.
Tricomas tectores	adaxial	1) ápice curvo	1) longos, cilíndrico, ápice arredondado	1) cilíndrico, ápice estreito	1) filiforme	1) cilíndrico, ápice estreito	1) cilíndrico, ápice estreito	1) cilíndrico, ápice estreito
	abaxial	2) cilíndrico, ápice arredondado						
Estômatos		hipo	hipo	hipo	hipo	hipo	hipo	hipo
Papilas na face abaxial da epiderme				nervuras de médio porte	nervuras de médio porte	nervuras de médio porte	nervuras de médio porte	nervuras de médio porte
Cél. esclerenquimáticas no limbo foliar			grande feixe de células no centro do feixe vascular	calotas apostas ao floema			calotas abaixo do floema e xilema	calotas abaixo do floema e xilema
Formato das nervuras de médio porte		plano/lev. convexo	plano/lev. convexo	plano/lev. convexo	côncavo/convexo	plano/lev. convexo	plano/lev. convexo	plano/lev. convexo
Formato da nervura central								
Arranjo dos feixes na nervura central		1 feixe em arco fletido, 1 dorsal, medula pequena	1 arco fechado, medula pequena	5 feixes em arco fletido, 1 dorsal	4 feixes em círculo	4 feixes em arco fletido, 1 dorsal	6 feixes em arco fletido, 1 dorsal	5 feixes em arco fletido, 1 dorsal
Formato do pecíolo		plano-convexo	plano-convexo à côncavo-convexo	côncavo-convexo	plano-convexo	plano-convexo	plano-convexo à côncavo-convexo	plano-convexo
Arranjo dos feixes no pecíolo		3 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	3 feixes em arco fletido, 1 dorsal, 2 laterais	8 feixes em "U", 1 dorsal, 2 laterais	6 feixes em anel, 2 ou 3 medulares, 2 laterais	8 feixes em anel, 2 medulares, 2 laterais	9 feixes em anel, 2 medulares, 2 laterais	5 feixes em arco fletido, um feixe dorsal, 2 laterais

lev. – levemente; ond. – ondulado; sin. – sinuoso; hipo – hipoestomática; anfi – anfiestomática; cél – células; xil. – xilema.

5.2 ANÁLISE QUÍMICA

5.2.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

5.2.1.1 Sistema eluente 1

Os resultados obtidos com o sistema eluente 1 (constituído por acetato de etila, acetona, ácido acético e água, 6:2:1:1), são apresentados no Quadro 11 e nas Figuras 16-19.

Todas as amostras de *Passiflora* mais quatro padrões de flavonoides (isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina) foram eluídos com o objetivo de estabelecer um perfil cromatográfico específico para cada espécie.

Os três exemplares analisados para a espécie *P. actinia* (1.1, 1.2 e 1.3) mostraram perfis cromatográficos semelhantes, com a presença de seis bandas principais. Uma diferença aparentemente quantitativa foi observada na segunda banda da amostra 1.1, a qual apresentou uma coloração amarela mais intensa (Figura 16). De acordo com os valores de R_f (0,49 em *P. actinia* e 0,50 para o padrão) e com a coloração da banda, essa pode corresponder ao padrão isoorientina. A primeira banda, com R_f 0,57 parece corresponder à isovitexina.

As amostras analisadas de *P. alata*, por outro lado, apresentaram diferenças qualitativas entre si (Figura 16). Observa-se, entretanto, que as amostras podem ser divididas em dois grupos de acordo com a semelhança de seus perfis. 2.1 e 2.4 constituindo um grupo e 2.2, 2.3, e 2.5 outro, sendo a principal diferença entre tais grupos a presença de uma mancha amarela de R_f 0,22 presente em 2.1 e 2.4 e ausente nas demais. Em todas as amostras podem ser observadas duas bandas com R_f 0,49 e 0,57, correspondentes à isoorientina e isovitexina, respectivamente, em R_f e coloração.

As amostras de *P. amethystina* (3.1, 3.2 e 3.3) mostraram-se muito semelhantes entre si, apresentando cinco bandas bem definidas, de coloração amarelo-esverdeada, amarela, azul brilhante, azul opaca e azul esverdeada, de cima para baixo (Figuras 16, 17). Nessa mesma ordem, a primeira banda (R_f 0,57) parece corresponder à isovitexina (R_f 0,57), a segunda (R_f 0,49) à isoorientina (R_f 0,50).

O exemplar 4.4 de *P. capsularis* destacou-se dos outros três por apresentar bandas com pouca intensidade de coloração, dificilmente detectáveis (Figura 17). As demais amostras são similares, apresentando três bandas principais, sendo a primeira de coloração amarela e mesmo fator de retenção que a isoorientina, a segunda de um azul brilhante intenso e a terceira amarela.

A única amostra de *P. cincinnata* estudada mostrou seis bandas principais cujas colorações variaram do amarelo e amarelo esverdeado ao alaranjado (Figura 17). A banda superior possui a mesma coloração e fator de retenção do padrão isovitexina (R_f 0,57). Já a segunda, de R_f 0,49, parece corresponder à isoorientina (R_f 0,50).

Pode-se observar que a primeira amostra de *P. edulis* f. *flavicarpa* (6.1) apresentou-se completamente diferente das demais (6.2, 6.3 e 6.4), as quais, por sua vez, são semelhantes entre si, possuindo sete bandas principais. 6.1 possui bandas (cerca de quatro) com fator de

retenção superior ao maior R_f das outras três amostras. Sendo que a maioria das bandas presentes nas amostras 6.2-6.4 não está presente ou, no mínimo, não podem ser distinguidas em 6.1 (Figura 17). A amostra 6.1 possui uma banda com R_f 0,70, a qual pode corresponder à vitexina (R_f 0,69). Já as duas primeiras bandas das demais amostras (R_f 0,57 e R_f 0,49) coincidem com os padrões isovitexina e isoorientina, respectivamente.

Os dois exemplares analisados de *P. edulis* f. *edulis*, como pode ser visto na Figura 18, mostraram perfis muito distintos. Enquanto as bandas de 7.1 apresentam coloração amarela à esverdeada e concentram-se na região superior da placa (com maiores valores de R_f), as bandas com coloração amarela de 7.2 possuem menores valores de R_f . Além disso, 7.2 possui duas bandas não encontradas em nenhuma outra amostra analisada. Uma verde com R_f 0,86 e uma vermelha com R_f 0,77. 7.1 apresenta uma banda com R_f 0,70 que parece corresponder ao padrão vitexina (R_f 0,69). Por outro lado, 7.2 possui uma banda com R_f 0,58, a qual possivelmente corresponde ao padrão isovitexina.

Perfis semelhantes foram encontrados para as amostras de *P. incarnata* estudadas (Figura 18). Uma menor intensidade de coloração das bandas de 8.3, por outro lado, sugere que a mesma possua uma menor concentração das substâncias visualizáveis por meio da metodologia empregada. A comparação entre o fator de retenção e a coloração das três bandas superiores de *P. incarnata* (R_f 0,69; 0,57; 0,50) com os padrões usados, sugerem que essas se tratam de vitexina, isovitexina e isoorientina, respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas entre os perfis das amostras de *P. morifolia* (9.1-9.3) analisadas (Figura 18). O mesmo ocorreu para *P. urnifolia* (10.1-10.3) (Figuras 18, 19). Assim como em *P. incarnata*, *P. morifolia* apresenta bandas (R_f 0,68; 0,58; 0,50) que parecem corresponder aos padrões de vitexina, isovitexina e isoorientina, respectivamente. A banda com o mesmo fator de retenção da vitexina, contudo, apresenta-se fracamente colorida. A primeira banda de *P. urnifolia* apresenta um valor de R_f 0,71, pouco superior ao 0,68 possivelmente correspondente à vitexina de *P. morifolia* e ao 0,69 de *P. incarnata*. Sua coloração também apresenta alguma diferença, mostrando-se verde no lugar de amarelo esverdeado. Ainda em *P. urnifolia* são vistas bandas com coloração e valores de R_f (0,57; 0,50) similares aos padrões de isovitexina e isoorientina, respectivamente.

Diferenças marcantes podem ser vistas entre os exemplares de *P. coccinea* (11) e *P. setacea* (12) no que diz respeito às bandas com os menores valores de R_f , duas com coloração alaranjada e uma azul para *P. coccinea* e duas amarelas para *P. setacea* (Figura 19). Os híbridos dessas duas espécies (13, 14 e 15) não mostraram diferenças quanto aos seus perfis químicos quando analisadas por tal metodologia (Figura 19). Em ambas as espécies, assim como nos três híbridos estudados, foram detectadas bandas com coloração e fator de retenção próximos aos da isovitexina (R_f 0,59 nas amostras) e isoorientina (R_f 0,51 em tais amostras).

Quadro 11. Síntese dos resultados obtidos com a utilização do sistema eluente 1 em CCD.

Espécie	amostra (s)	n. de bandas principais	coloração*	R_f *
<i>P. actinia</i>	1.1, 1.2 e 1.3	6	Am-Vd; Am; Am; Az b; Am; Az	0,57; 0,49; 0,35; 0,32; 0,28; 0,04
<i>P. alata</i>	2.1 e 2.4	5	Am-Vd; Am; Vd; Am-Vd; Am	0,57; 0,49; 0,41; 0,31; 0,22

	2.2, 2.3 e 2.5	5	Am-Vd; Az; Am; Vd; Am	0,57; 0,51; 0,49; 0,41; 0,31
<i>P. amethystina</i>	3.1, 3.2 e 3.3	5	Am-Vd; Am; Az b; Az; Vd b	0,57; 0,49; 0,32; 0,19; 0,10
<i>P. capsularis</i>	4.1, 4.2 e 4.3	3	Am; Az b; Am	0,49; 0,33; 0,15
<i>P. cincinnata</i>	5	6	Am-Vd; Am; Am-Vd; Al; Am-Vd; Al	0,57; 0,49; 0,44; 0,33; 0,26; 0,16
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	6.1	7	Al; Az; Am-Vd; Al; Am; Al; Al	0,93; 0,81; 0,70; 0,59; 0,43; 0,31; 0,15
	6.2, 6.3 e 6.4	7	Am-Vd; Am; Az b; Am- Vd; M; Am-Vd; Al	0,57; 0,49; 0,33; 0,26; 0,22; 0,19; 0,15
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	7.1	8	Vd; M; Vd; Vd; Al; Vd; Vd; Az b	0,78; 0,75; 0,70; 0,62; 0,52; 0,49; 0,45; 0,34
	7.2	8	Vd; Vm; Am-Vd; Am-Vd; Az b; Am-Vd; Am-Vd; Al	0,86; 0,77; 0,58; 0,47; 0,34; 0,27; 0,19; 0,14
<i>P. incarnata</i>	8.1 e 8.2	6	Am-Vd; Am-Vd; Am; Az b; Am-Vd; Am	0,69; 0,57; 0,50; 0,33; 0,27; 0,20
	8.3	5	Am-Vd; Am-Vd; Am; Am- Vd; Am	0,69; 0,57; 0,50; 0,27; 0,21
<i>P. morifolia</i>	9.1, 9.2 e 9.3	9	Am; Am; Am; Am; Am- Vd; Az b; Am-Vd; Al; Vd b	0,80; 0,68; 0,58; 0,50; 0,44; 0,33; 0,27; 0,16
<i>P. urnifolia</i>	10.1, 10.2 e 10.3	7	Vd; Am-Vd; Am; Az b; Am; Am; Al	0,71; 0,57; 0,50; 0,33; 0,27; 0,19; 0,16
<i>P. coccinea</i>	11	6	Am; Am; Az b; Al; Az; Al	0,59; 0,51; 0,35; 0,33; 0,26; 0,17
<i>P. setacea</i>	12	6	Am; Am; Am; Az b; Am; Am	0,59; 0,51; 0,38; 0,35; 0,30; 0,20
Híbridos	13, 14 e 15	8	Am; Am; Am; Az b; Am; Az; Am; Al	0,59; 0,51; 0,38; 0,35; 0,30; 0,26; 0,20; 0,17
Padrões	isovitexina	1	Am-Vd	0,57
	vitexina	1	Am-Vd	0,69
	isoorientina	1	Am	0,50
	orientina	1	Am	0,60

* Os dados são apresentados em ordem de aparecimento, de cima para baixo, na placa cromatográfica.

Am – amarelo; Am-Vd – amarelo esverdeado; Al – alaranjado; Az – azul; Az b – azul brilhante; Vd – verde; Vd b – verde brilhante; Vm – vermelho; M – marrom.

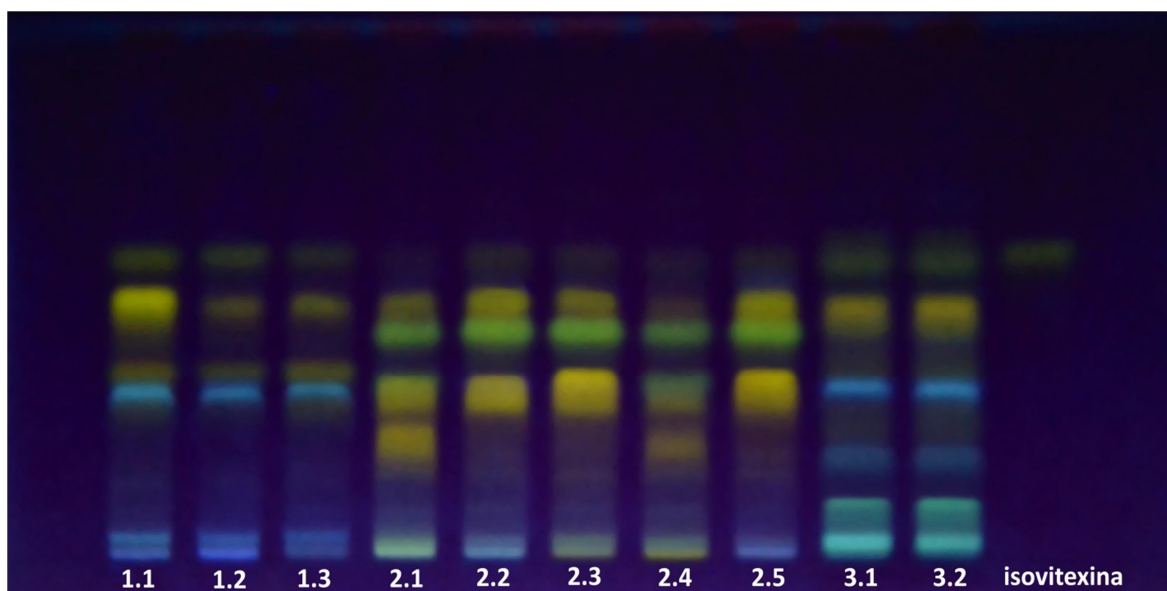


Figura 16. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 1.1-1.3 (*P. actinia*), 2.1-2.5 (*P. alata*), 3.1-3.2 (*P. amethystina*) e do padrão isovitexina.

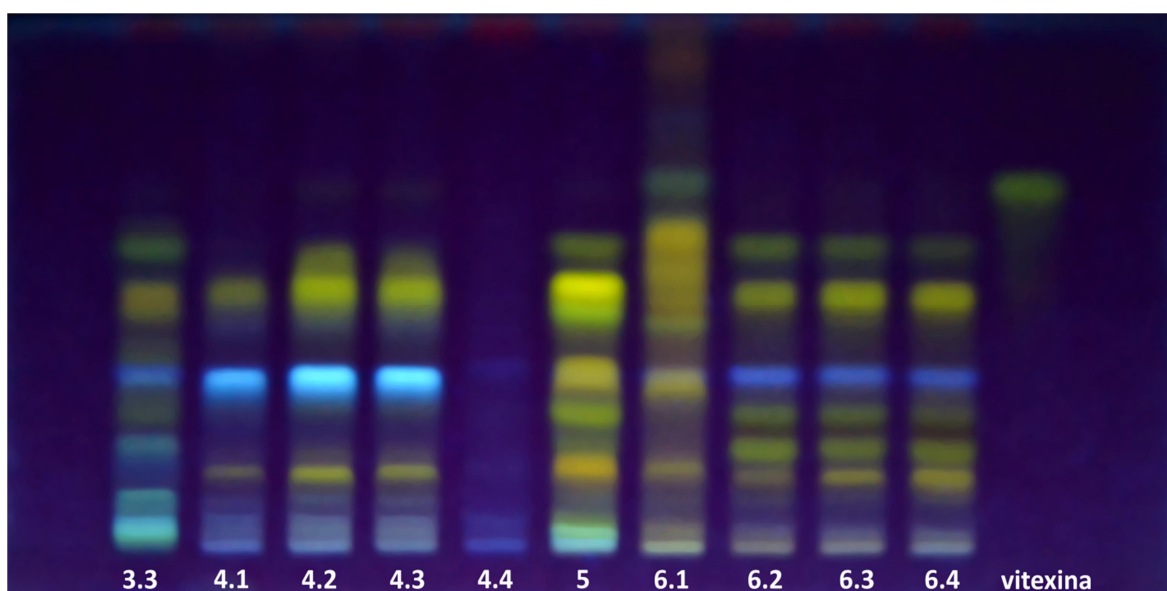


Figura 17. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 3.3 (*P. amethystina*), 4.1-4.4 (*P. capsularis*), 5 (*P. cincinnata*), 6.1-6.4 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e do padrão vitexina.

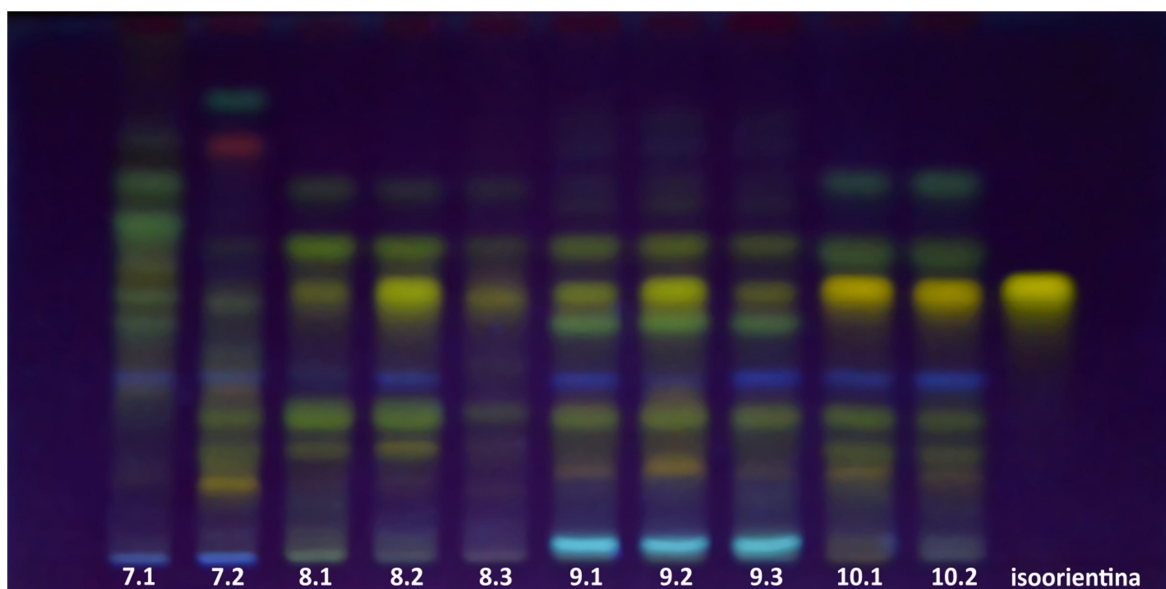


Figura 18. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 7.1-7.2 (*P. edulis* f. *edulis*), 8.1-8.3 (*P. incarnata*), 9.1-9.3 (*P. morifolia*), 10.1-10.2 (*P. urnifolia*) e do padrão isoorientina.

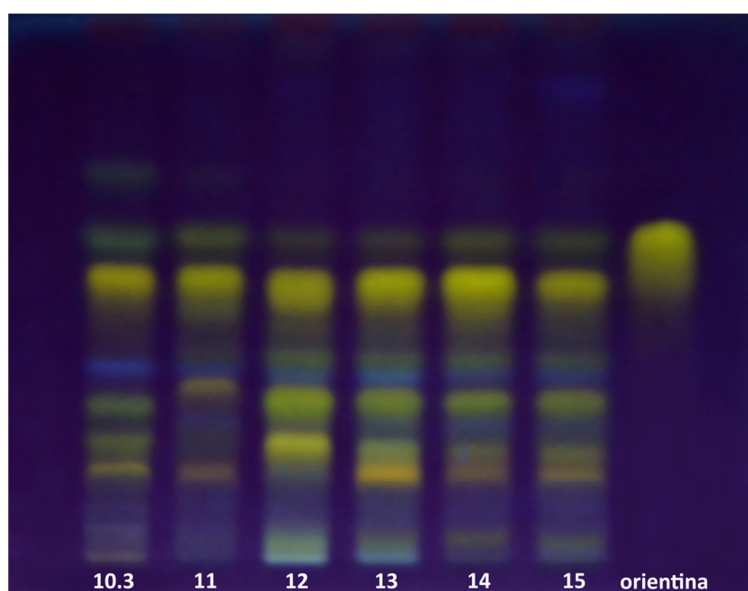


Figura 19. CCD obtida com o uso do sistema eluente 1. Amostras 10.3 (*P. urnifolia*), 11 (*P. coccinea*), 12 (*P. setacea*), 13-15 (híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora, respectivamente) e do padrão orientina.

5.2.1.2 Sistema eluente 2

As placas cromatográficas obtidas com a utilização do sistema eluente 2 (acetato de etila, ácido acético, ácido fórmico e água, 10:1,1:1,2,5) são apresentadas nas Figuras 20-23.

As mesmas amostras que se destacaram por suas diferenças qualitativas junto às demais quando do emprego do sistema eluente 1, puderam ser detectadas com a utilização do sistema eluente 2. Com esta última fase móvel, entretanto, todas as bandas apresentaram-se

mais definidas, sendo assim possível a visualização de um maior número de bandas, como mostrado no Quadro 12, o que torna mais precisa a comparação entre os perfis.

Assim como observado com o emprego do sistema eluente 1, a banda correspondente ao padrão isoorientina (terceira banda, R_f 0,59) apresentou-se mais fortemente corada na amostra 1.1, quando comparada às outras duas amostras de *P. actinia* (Figura 20). Já as bandas que coincidem com o padrão isovitexina (primeira banda, R_f 0,66) mostraram intensidades similares de coloração.

Da mesma maneira, todos os exemplares de *P. alata* apresentaram bandas (R_f 0,66 e 0,59) correspondentes aos padrões isovitexina e isoorientina (R_f 0,66 e 0,58), respectivamente. Como já observado com o uso da fase móvel anterior, as amostras tiveram dois perfis diferentes de eluição. Um perfil com 7 bandas principais para 2.1 e 2.4 e outro com 5 bandas para as demais amostras. Com esse sistema de eluição foi possível detectar com maior clareza a diferença entre os dois grupos de amostras, constituída pela adição de duas bandas em 2.1 e em 2.4, com valores de R_f de 0,39 e 0,33 (Figura 20).

Para as amostras de *P. amethystina*, uma melhor separação de seus constituintes foi atingida com o uso da fase móvel 2, sendo encontradas no mínimo nove bandas principais (Figuras 20, 21), comparadas às cinco vistas com uso da fase móvel 1. Por outro lado, os dois sistemas permitiram a identificação de duas bandas com R_f 0,66 e 0,59 (no sistema eluente 2) e coloração condizentes aos padrões de isovitexina e isoorientina, respectivamente.

O perfil obtido para *P. capsularis* contou, assim como o de *P. amethystina*, com uma melhor separação dos constituintes e um maior número de bandas (Figura 21), quando comparado ao perfil anterior. Da mesma maneira que no sistema eluente 1, uma banda que parece corresponder ao padrão isoorientina foi encontrada (R_f 0,61 em *P. capsularis*, R_f 0,58 para o padrão). Adicionalmente, no último método empregado foi observada uma banda com fator de retenção e coloração similares ao padrão orientina (R_f 0,70 em *P. capsularis*, R_f 0,68 para o padrão).

O exemplar analisado de *P. cincinnata* exibiu dez bandas principais (Figura 21), quatro a mais quando comparado com o resultado obtido com a fase móvel 1. Duas delas (R_f 0,68 e 0,61) coincidem com os padrões de isovitexina e isoorientina.

Com tal sistema eluente, foi igualmente observado que a amostra 6.1 se destaca das demais (Figura 21). Essa amostra apresenta uma banda com R_f 0,78 que parece corresponder ao padrão de vitexina. As demais (6.2, 6.3 e 6.4) mostraram bandas similares em coloração e fator de retenção (R_f 0,68 e 0,60) aos padrões de isovitexina e isoorientina, respectivamente.

As amostras 7.1 e 7.2 apresentaram perfis muito diferentes entre si (Figura 22). Foi encontrada uma banda de coloração fraca com R_f 0,75 similar ao padrão de vitexina na amostra 7.1. Na segunda amostra de *P. edulis* f. *edulis* não foi possível identificar nenhuma banda que correspondesse aos padrões analisados.

Pode-se confirmar o já observado para o sistema eluente 1, que a amostra 8.3 de *P. incarnata* possui bandas com intensidade de coloração inferior às outras duas (Figura 22). Para todas elas, entretanto, três bandas (R_f 0,77, 0,67 e 0,59) com as mesmas características dos padrões de vitexina, isovitexina e isoorientina, foram encontradas. Essas mesmas bandas, com fatores de retenção de 0,75, 0,67 e 0,59, foram vistas nas amostras de *P. morifolia* (Figura 22).

As três amostras de *P. urnifolia*, semelhantes entre si (Figuras 22, 23), exibiram duas bandas com R_f 0,65 e 0,58 que podem estar relacionadas aos padrões de isovitexina e isoorientina, respectivamente.

P. coccinea, *P. setacea* e os três híbridos estudados exibiram bandas que podem ser atribuídas aos padrões de isovitexina e isoorientina. Ao contrário do mostrado com o sistema eluente 1, onde os perfis obtidos para os híbridos foram iguais, o híbrido 13 (Estrela-do-cerrado) possui, quando a fase móvel 2 é empregada, uma banda azul brilhante de R_f 0,62 que não pode ser vista em Rubiflora e Roseflora, que, por sua vez, são muito semelhantes entre si (Figura 23).

Quadro 12. Síntese dos resultados obtidos em CCD com a utilização do sistema eluente 2.

Espécie	amostra (s)	n. de bandas principais	coloração*	R_f *
<i>P. actinia</i>	1.1, 1.2 e 1.3	7	Am-Vd; Az; Am; Vm; Am-Vd; Am-Vd; Az	0,66; 0,62; 0,59; 0,47; 0,42; 0,36; 0,04
<i>P. alata</i>	2.1 e 2.4	7	Am-Vd; Az; Am; Vd; Am; Vd; Am	0,66; 0,62; 0,59; 0,50; 0,42; 0,39; 0,33
	2.2, 2.3 e 2.5	5	Am-Vd; Az; Am; Vd; Am;	0,66; 0,62; 0,59; 0,50; 0,42
<i>P. amethystina</i>	3.1, 3.2 e 3.3	9	Az; Am-Vd; Az; Am; Am; Am-Vd; Vd b; Vd b; Az	0,71; 0,66; 0,62; 0,59; 0,50; 0,42; 0,34; 0,22; 0,07
<i>P. capsularis</i>	4.1, 4.2 e 4.3	7	Az b; Am; Az; Am; Am; Am; Al	0,76; 0,70; 0,65; 0,61; 0,35; 0,31; 0,24
<i>P. cincinnata</i>	5	10	Am; Az; Am; Am; Am; Az; Am; Al; Am; Am	0,68; 0,65; 0,61; 0,52; 0,45; 0,36; 0,33; 0,28; 0,21; 0,13
<i>P. edulis f. flavicarpa</i>	6.1	8	Al; Am; Am; Am; Am; Am; Al; Am	0,98; 0,91; 0,86; 0,78; 0,71; 0,62; 0,50; 0,43
	6.2, 6.3 e 6.4	7	Am; Az; Am; Am; M; Am; Al	0,68; 0,65; 0,60; 0,34; 0,32; 0,29; 0,23
<i>P. edulis f. edulis</i>	7.1	11	Al; M; Am; Am; Am; M; Am-Vd; M; Am; Al; Az	0,98; 0,80; 0,75; 0,68; 0,61; 0,58; 0,55; 0,52; 0,48; 0,41; 0,33
	7.2	10	Vd; Vm; Az; Am-Vd; Vd; Al; Am; Am; Am; Am	0,90; 0,84; 0,62; 0,58; 0,53; 0,44; 0,41; 0,33; 0,28; 0,22

<i>P. incarnata</i>	8.1 e 8.2	7	Am; Am; Az; Am; Am; Am; Am	0,77; 0,67; 0,62; 0,59; 0,37; 0,33; 0,27
	8.3	6	Am; Am; Am; Am; Am; Am	0,77; 0,67; 0,59; 0,37; 0,33; 0,27
<i>P. morifolia</i>	9.1, 9.2 e 9.3	10	Am; Am; Am; Az; Am; Am-Vd; Al; Az b; Am; Al	0,82; 0,75; 0,67; 0,63; 0,59; 0,50; 0,41; 0,36; 0,32; 0,26
<i>P. urnifolia</i>	10.1, 10.2 e 10.3	6	Am-Vd; Am-Vd; Am; Am; Am; Am	0,77; 0,65; 0,58; 0,34; 0,28; 0,23
<i>P. coccinea</i>	11	7	Az b; Am-Vd; Am; Az; Al; Am; Al	0,96; 0,64; 0,57; 0,48; 0,43; 0,39; 0,28
<i>P. setacea</i>	12	8	Az b; Am-Vd; Az b; Am; Az b; Am-Vd; Am; Am	0,96; 0,65; 0,62; 0,58; 0,48; 0,42; 0,37; 0,30
Híbridos	13	9	Az b; Am-Vd; Az b; Am; Az b; Am-Vd; Am; Am; Al	0,96; 0,65; 0,62; 0,58; 0,48; 0,42; 0,37; 0,30; 0,26
	14, 15	8	Az b; Am-Vd; Am; Az; Am-Vd; Am; Am; Al	0,96; 0,65; 0,58; 0,48; 0,42; 0,37; 0,30; 0,26
Padrões	isovitexina		Am, Am-Vd	0,66
	vitexina		Am-Vd	0,78
	isorientina		Am	0,58
	orientina		Am	0,68

* Os dados são apresentados em ordem de aparecimento, de cima para baixo, na placa cromatográfica.

Am – amarelo; Am-Vd – amarelo esverdeado; Al – alaranjado; Az – azul; Az b – azul brilhante; Vd – verde; Vd b – verde brilhante; Vm – vermelho; M – marrom.

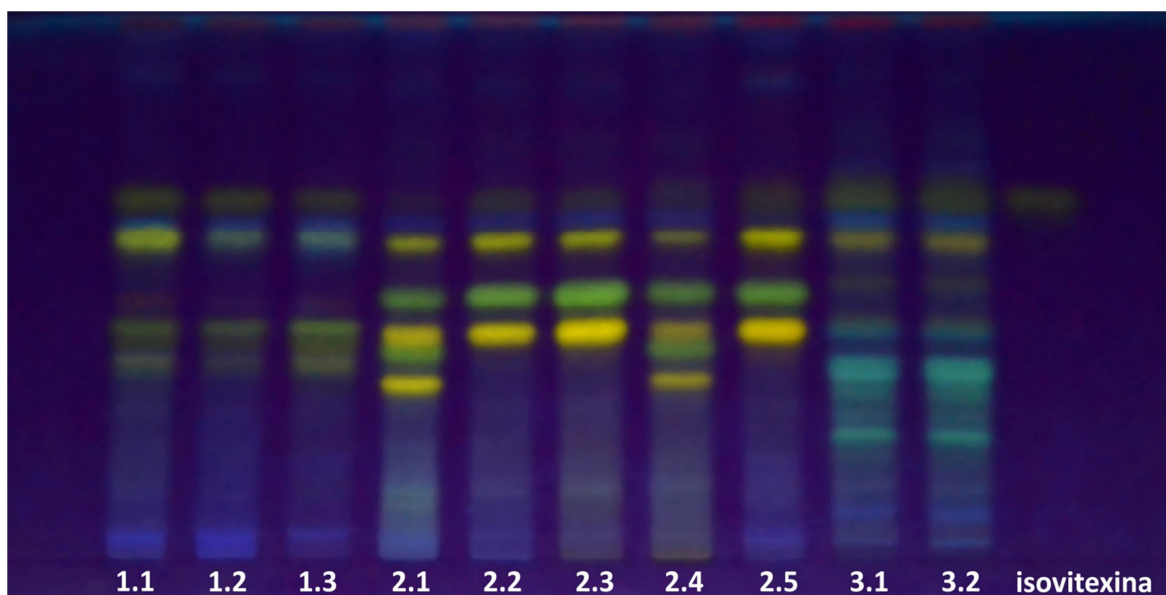


Figura 20. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 1.1-1.3 (*P. actinia*), 2.1-2.5 (*P. alata*), 3.1-3.2 (*P. amethystina*) e do padrão isovitexina.

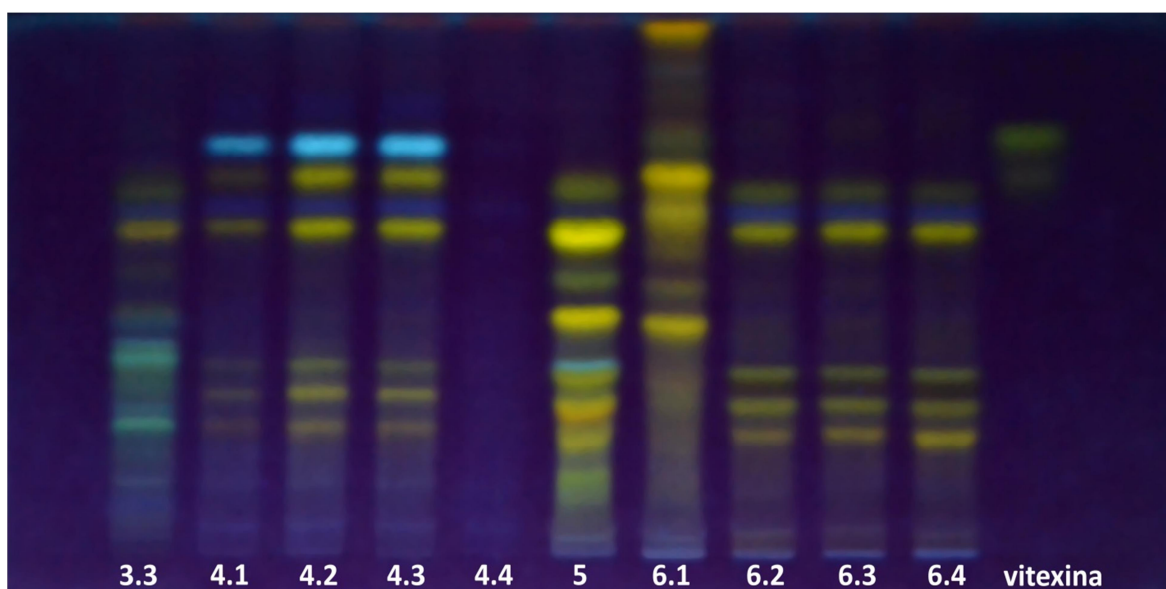


Figura 21. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 3.3 (*P. amethystina*), 4.1-4.4 (*P. capsularis*), 5 (*P. cincinnata*), 6.1-6.4 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e do padrão vitexina.

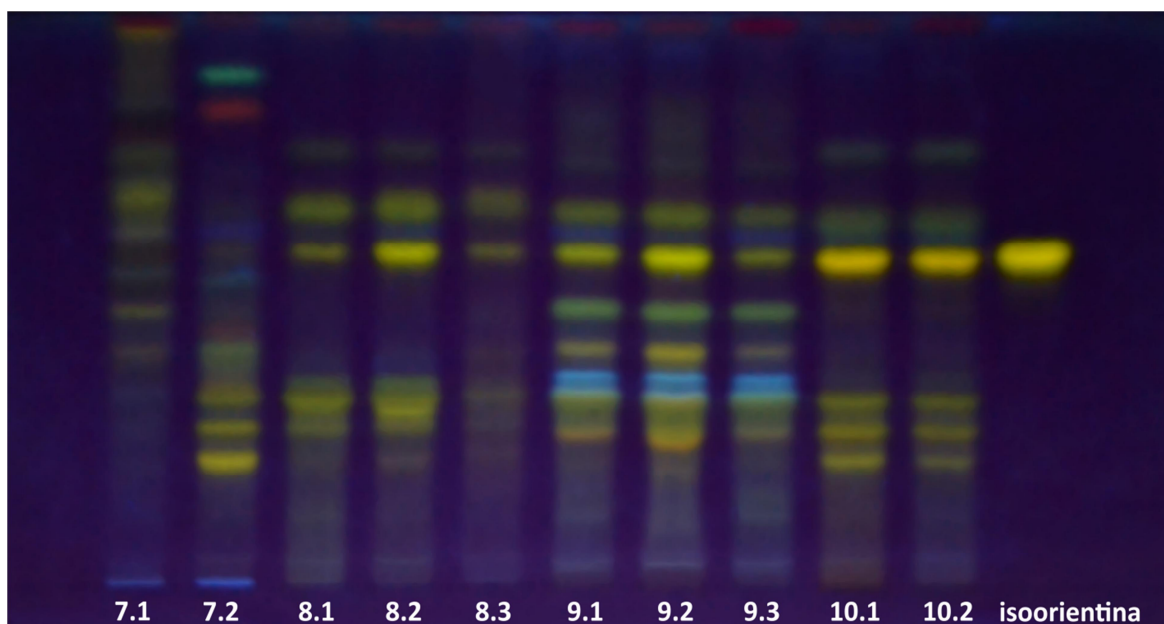


Figura 22. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 7.1-7.2 (*P. edulis* f. *edulis*), 8.1-8.3 (*P. incarnata*), 9.1-9.3 (*P. morifolia*), 10.1-10.2 (*P. urnifolia*) e do padrão isoorientina.

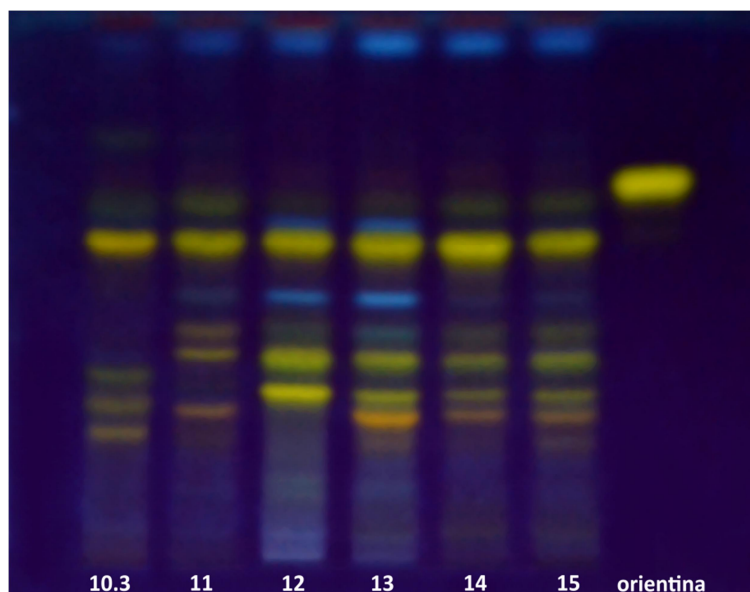


Figura 23. CCD obtida com o uso do sistema eluente 2. Amostras 10.3 (*P. urnifolia*), 11 (*P. coccinea*), 12 (*P. setacea*), 13-15 (híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora, respectivamente) e do padrão orientina.

5.2.1.3 Comparação por CCD entre as espécies de *Passiflora* estudadas e padrões por meio de dois sistemas eluentes distintos

Um exemplar selecionado para cada espécie juntamente com os quatro padrões de flavonoides glicosilados disponíveis, foram dispostos em sequência e submetidos à cromatografia em camada delgada com os dois sistemas eluentes empregados no trabalho, a

fim de possibilitar a comparação visual entre os diferentes perfis apresentados para cada espécie. Os híbridos, por possuírem perfis semelhantes, não foram incluídos em tal análise.

- Sistema eluente 1

Os perfis cromatográficos obtidos com o emprego da fase móvel constituída por acetato de etila, acetona, ácido acético e água (6:2:1:1), são apresentados na Figura 24.

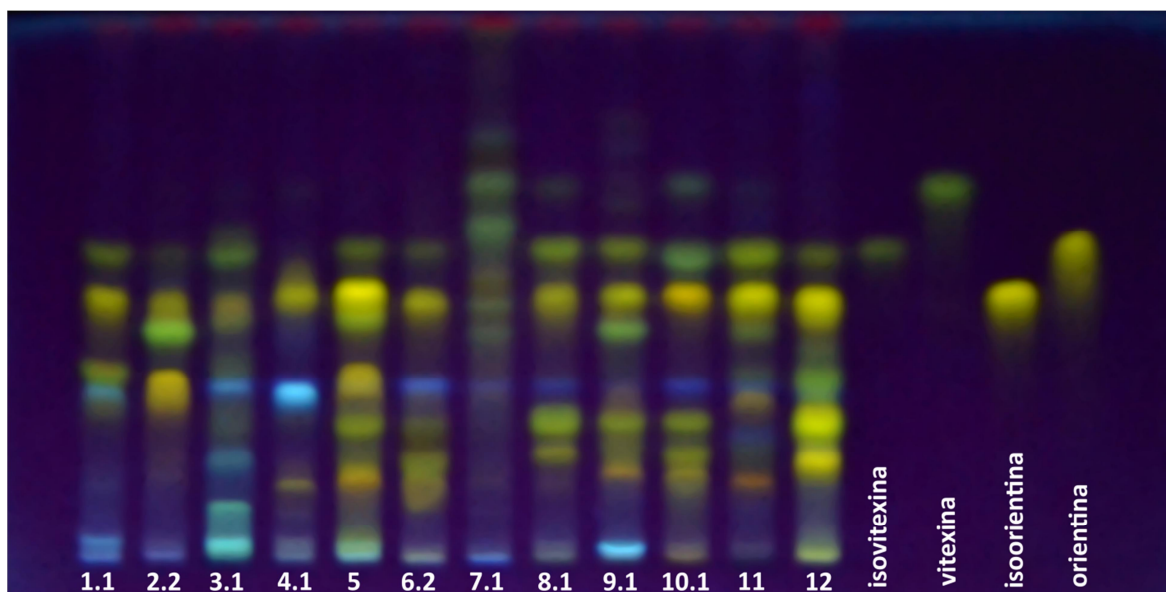


Figura 24. Comparação entre as os extratos hidroalcoólicos das folhas das espécies de *Passiflora* por CCD. Sistema eluente 1. Amostras 1.1 (*P. actinia*), 2.2 (*P. alata*), 3.1 (*P. amethystina*), 4.1 (*P. capsularis*), 5 (*P. cincinnata*), 6.2 (*P. edulis* f. *flavicarpa*), 7.1 (*P. edulis* f. *edulis*), 8.1 (*P. incarnata*), 9.1 (*P. morifolia*), 10.1 (*P. urnifolia*), 11 (*P. coccinea*), 12 (*P. setacea*) e dos padrões isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina.

- Sistema eluente 2

Os perfis cromatográficos obtidos com o emprego da fase móvel constituída por acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético e água (10:1,1:1,1:2,5), são apresentados na Figura 25.

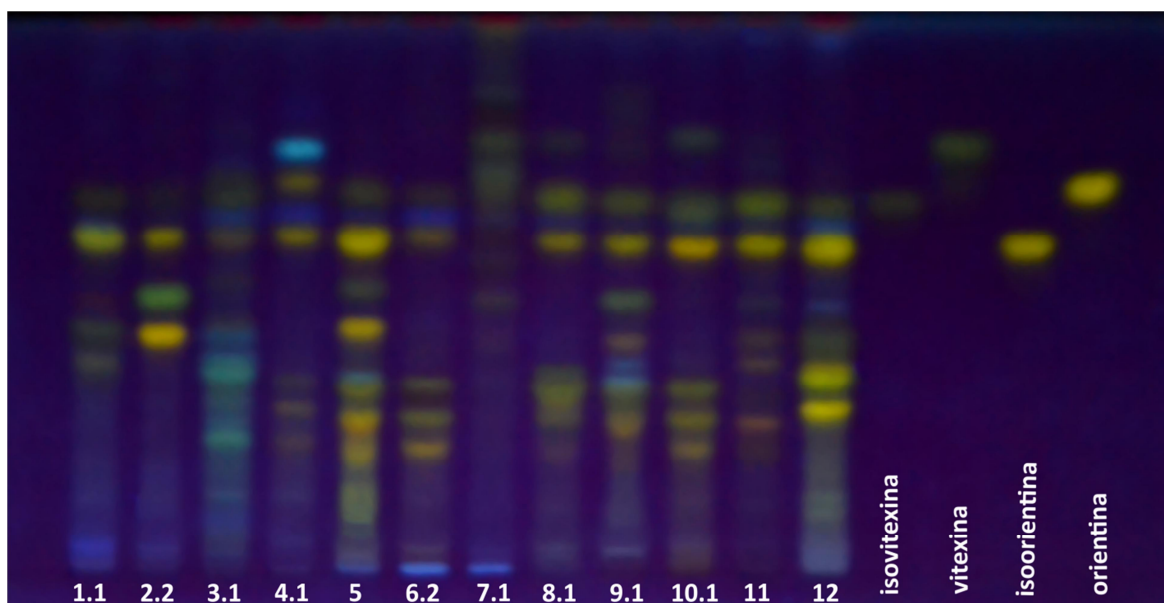


Figura 25. Comparação entre os extratos hidroalcoólicos das folhas das espécies de *Passiflora* por CCD. Sistema eluente 2. Amostras 1.1 (*P. actinia*), 2.2 (*P. alata*), 3.1 (*P. amethystina*), 4.1 (*P. capsularis*), 5 (*P. cincinnata*), 6.2 (*P. edulis* f. *flavicarpa*), 7.1 (*P. edulis* f. *edulis*), 8.1 (*P. incarnata*), 9.1 (*P. morifolia*), 10.1 (*P. urnifolia*), 11 (*P. coccinea*), 12 (*P. setacea*) e dos padrões isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina.

5.2.2 Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)

5.2.2.1 Comparação entre os perfis dos exemplares de cada espécie

A maior parte dos exemplares de cada espécie analisados por cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos, apresentou perfis qualitativos similares e, portanto, superponíveis, como pode ser observado nas Figuras 26, 27.

A técnica empregada de CLAE-DAD permitiu a detecção das mesmas diferenças qualitativas já identificadas no perfil de flavonoides de algumas amostras, quando comparadas aos demais exemplares de uma mesma espécie, por cromatografia em camada delgada.

Tais diferenças foram observadas em *P. alata* (com amostras divididas em dois grupos de acordo com a similaridade de seus perfis: 2.1 e 2.4; 2.2, 2.3 e 2.5) (Figura 26), no exemplar 6.1 de *P. edulis* f. *flavicarpa* (Figura 26) e nas duas amostras estudadas de *P. edulis* f. *edulis* (Figura 27).

O emprego da CLAE (com todas as amostras tendo sido processadas da mesma forma e injetadas na mesma quantidade e concentração) permite a realização de uma análise comparativa quantitativa entre as amostras com uma maior confiabilidade do que a que poderia ser realizada a partir do método de CCD. Dessa forma, as demais variações encontradas foram de caráter quantitativo.

A mais expressiva foi a apresentada pelo exemplar 4.4 de *P. capsularis* (Figura 26). Apesar de estarem em concentração muito inferior, a sobreposição dos cromatogramas obtidos

para tal espécie permitiu visualizar em 4.4, picos nos mesmos tempos de retenção daqueles encontrados nas demais amostras (Figura 38). O método de CCD, devido sua menor sensibilidade, não possibilitou tal constatação.

Outra diferença quantitativa bastante pronunciada foi vista em *P. incarnata*, com o exemplar 8.3 exibindo os picos principais em concentração bastante inferior à detectada em 8.1 e 8.2 (Figura 27).

As outras variações detectadas foram mais sutis. Por exemplo, para a espécie *P. actinia* a amostra 1.3 apresentou o último pico (tempo de retenção aproximado de 16 min) com a menor intensidade exibida entre as amostras estudadas dessa espécie. Diferenças quantitativas como essa podem ser vistas em outros picos e outras espécies (*P. alata*, *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. morifolia*, por exemplo) ao observar as Figuras 26 e 27.

Os híbridos estudados mostraram perfis superponíveis, com variações essencialmente de caráter quantitativo (Figura 27).

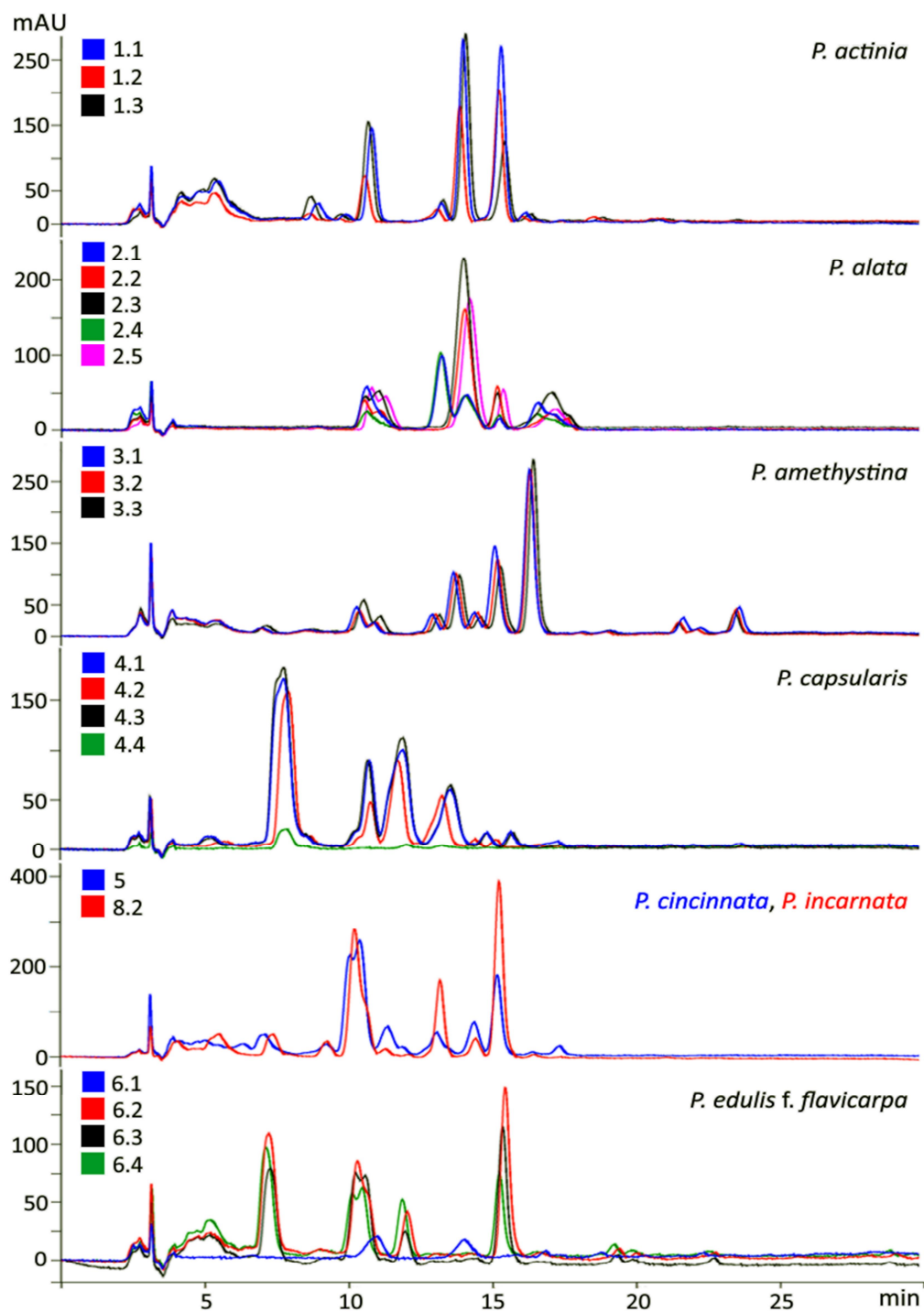


Figura 26. Sobreposição dos cromatogramas obtidos por CLAE-DAD para as amostras estudadas de *P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. cincinnata* comparada a *P. incarnata* e *P. edulis f. flavicarpa*.

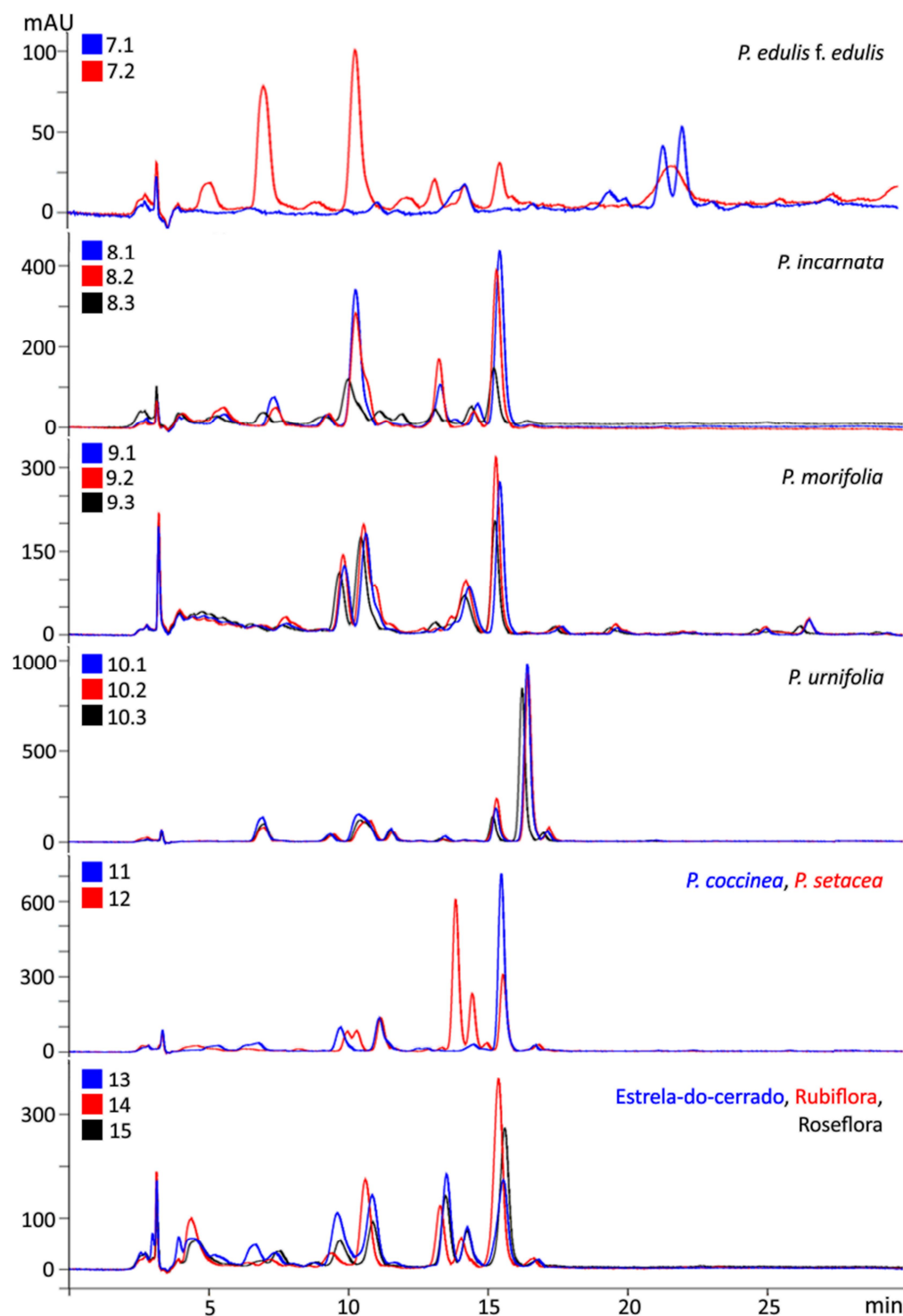


Figura 27. Sobreposição dos cromatogramas obtidos por CLAE-DAD para as amostras estudadas de *P. edulis* f. *edulis*, *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia*, *P. coccinea* comparada à *P. setacea* e para os híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora.

5.2.2.2 Comparação entre as espécies por coinjeção com padrão

Os perfis cromatográficos dos padrões de isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina, estão apresentados na Figura 28. Como se pode observar, o tempo de retenção dos isômeros é muito semelhante. A fim de verificar a separação dos picos, uma mistura dos quatro padrões foi injetada, como apresentado pela Figura 29. Apesar de possuírem tempos de retenção próximos, vitexina e isovitexina exibiram picos com razoável resolução. Ao contrário, isoorientina e orientina não puderam ser completamente separadas com a metodologia empregada.

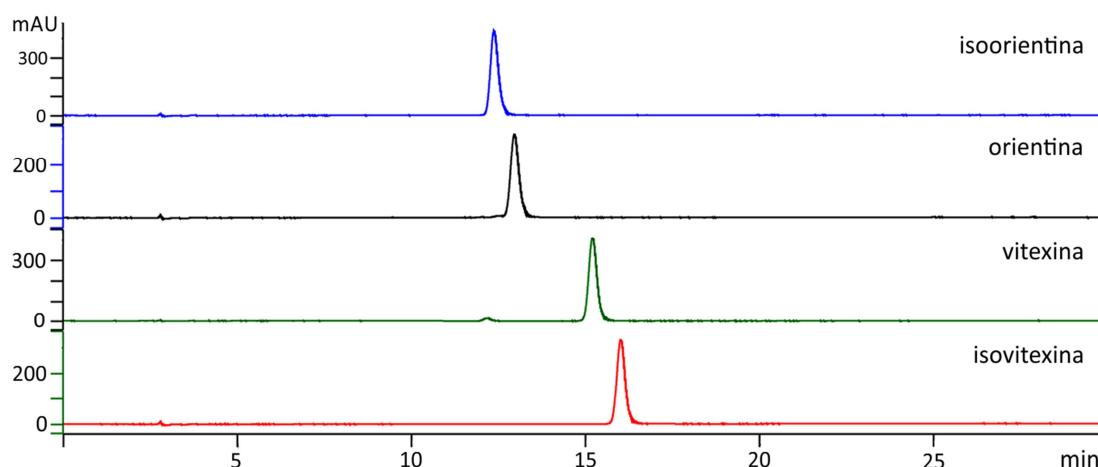


Figura 28. Cromatogramas dos padrões de isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina. Todas as amostras foram injetadas em mesma quantidade e concentração.

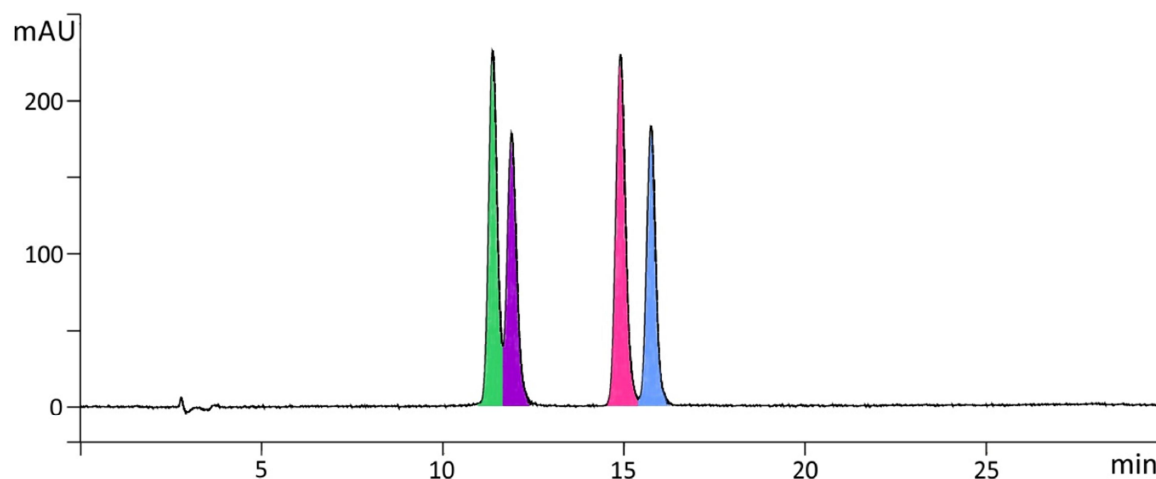


Figura 29. Perfil cromatográfico apresentado pela mistura dos padrões isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina. A mistura injetada continha os quatro padrões em igual concentração. verde: isoorientina; roxo: orientina; rosa: vitexina; azul: isovitexina.

As coinjeções com os padrões de isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina, permitiram a correlação de alguns dos picos exibidos em cada perfil com um ou mais flavonoides glicosilados.

Os picos foram coloridos, de acordo com o flavonoide identificado pela coinjeção, em azul – isovitexina, rosa – vitexina, verde – isoorientina e roxo – orientina (Figuras 30, 31). Os picos apenas parcialmente coloridos correspondem aos que foram coeluídos com os padrões, sendo, todavia, apenas parcialmente constituídos pelo flavonoide em questão. Os picos com duas cores são aqueles que foram coeluídos com dois padrões. Todos os cromatogramas obtidos com os testes de coeluição estão reunidos nos anexos.

Tais resultados permitiram observar, que os picos 3, 5 e 6 de *P. actinia* (Figura 30) são coeluídos com os padrões isoorientina, vitexina e isovitexina, respectivamente. A coinjeção com o padrão de orientina ocasionou o surgimento de uma subdivisão do pico 3, o que não ocorreu com a adição do padrão isoorientina à amostra.

A amostra 2.1 de *P. alata* exibiu um pico de baixa intensidade correspondente à isovitexina. O pico 3 coincidiu com o padrão vitexina e o pico 1 coeluiu com ambos: isoorientina e orientina. Os mesmos padrões foram identificados para a amostra 2.2, sendo a diferença entre as amostras o pico 2 da 2.1, inexistente em 2.2 (Figura 30).

Em *P. amethystina*, os padrões de isoorientina, vitexina e isovitexina foram identificados nos picos 1, 5 e 6, respectivamente. De acordo com o observado pela coinjeção com orientina, essa substância deveria se localizar entre os picos 1 e 2 (Figura 30).

P. capsularis exibiu picos coeluídos com os quatro padrões: pico 2 – isoorientina, 3 – orientina, 5 – vitexina e 6 – isovitexina, apesar dos dois últimos terem sido observados em baixíssima intensidade (Figura 30).

Já para *P. cinnata*, os padrões isoorientina, vitexina e isovitexina foram coeluídos com os picos de número 3, 6 e 7, respectivamente. Orientina ocasionou o aparecimento de um novo pico entre 3 e 4 (Figura 30).

Em *P. edulis* f. *flavicarpa* 6.2 pode-se visualizar a coeluição de isoorientina com a porção direita do pico 2 e de isovitexina com o pico 4. A coinjeção com vitexina gerou um novo pico entre 3 e 4 e orientina gerou o surgimento de um pico entre 2 e 3, o qual coeluiu com o pico 2. A amostra 6.1 não foi submetida às análises de coeluição, sendo a vitexina atribuída ao pico 2 pelos tempos de retenção observados (Figura 30).

As coinjeções para a amostra 7.1 de *P. edulis* f. *edulis* permitiram a correlação dos picos de baixa intensidade 1 e 2 aos padrões isoorientina e vitexina, respectivamente. Isovitexina gerou um novo pico após o pico 2 e orientina apresentou tempo de retenção ligeiramente superior à isoorientina. Se presente, portanto, seria correspondente à um pico de muito baixa intensidade (Figura 30). Por outro lado, o exemplar 7.2 exibiu dois picos, 5 e 6, também de baixa intensidade, coincidentes com os padrões de vitexina e isovitexina, respectivamente (Figura 31).

Sugeriu-se que o pico de maior intensidade observado em *P. incarnata* (6) pode ser atribuído à isovitexina, o pico 5 à vitexina e parte do pico 3 à isoorientina. Um novo pico entre 3 e 4 surgiu após a adição de orientina à amostra (Figura 31). O mesmo ocorreu em *P. morifolia*. O pico 2 corresponde em parte à isoorientina, o 3 corresponde à vitexina e o 4 à isovitexina (Figura 31).

Em *P. urnifolia*, contudo, o pico com maior absorção no comprimento de onda usado para a detecção não pode ser identificado como nenhum dos flavonoides usados como padrões. Isoorientina aumentou em intensidade parte do pico 3 e isovitexina coeluiu com o pico 5 (Figura 31).

Em *P. coccinea* o pico 3 se destaca em meio aos demais devido sua alta intensidade. Tal pico foi atribuído ao padrão isovitexina, sendo o pico 2 atribuído à isoorientina. Vitexina e orientina levaram ao surgimento de novos picos (Figura 31).

O pico correspondente à isovitexina de *P. setacea* (pico 5) encontra-se em menor intensidade quando comparado ao observado em *P. coccinea*. Assim como em *P. coccinea*, o pico 2 corresponde à isoorientina e vitexina e orientina ocasionaram o aparecimento de novos picos. A principal diferença entre as duas espécies está na presença de dois picos (3 e 4) em *P. setacea*, ausentes em *P. coccinea* (Figura 31).

A hibridização dessas duas espécies ocasionou o surgimento de plantas com perfis flavonoídicos intermediários, possuindo os dois picos presentes somente em *P. setacea*, e, entretanto, um pico referente à isovitexina de maior intensidade quando comparado à *P. setacea*. Nos três híbridos o pico 4 parece corresponder à isoorientina e o 7 à isovitexina. Novos picos foram observados após a adição de vitexina e orientina às amostras (Figura 31).

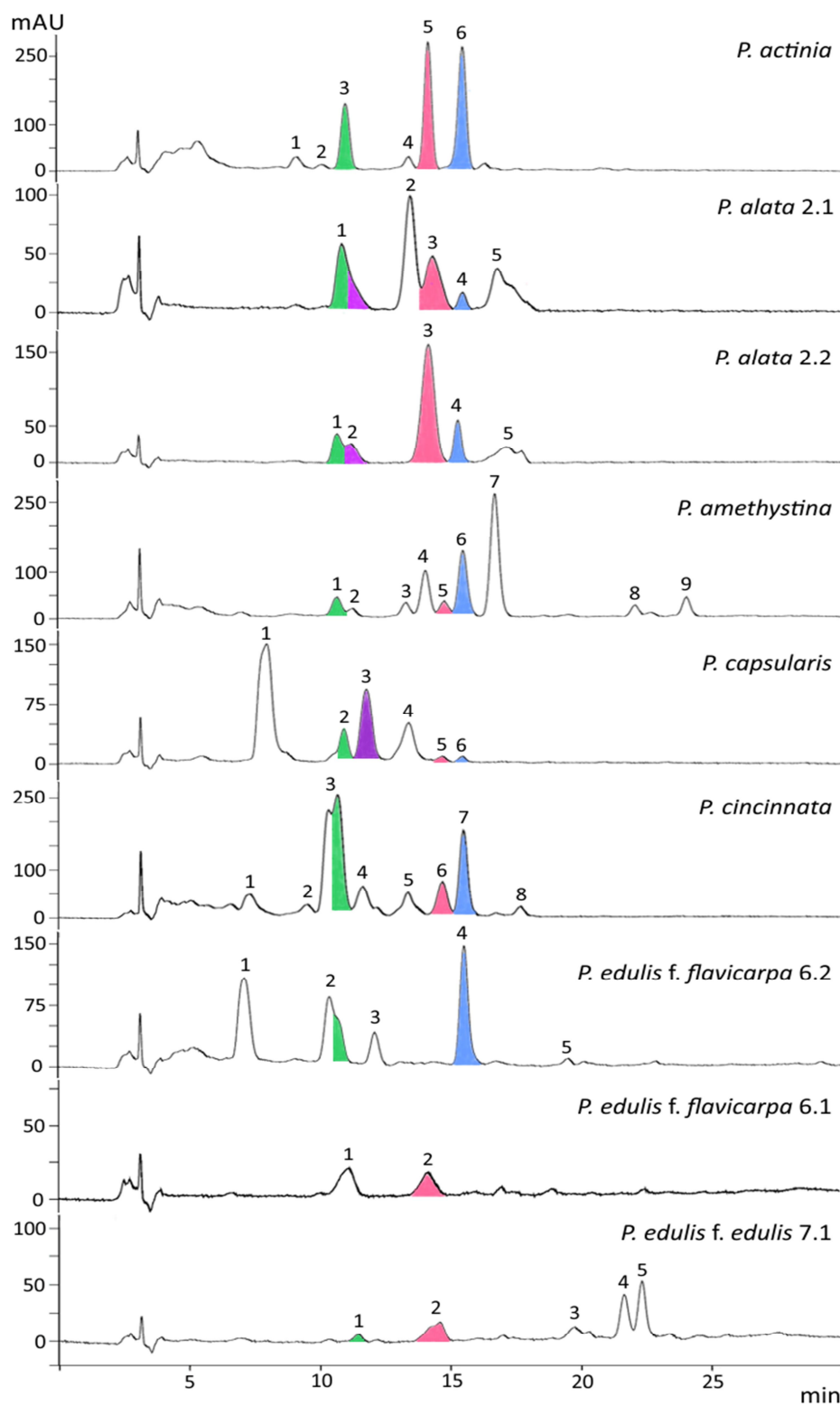


Figura 30. Comparação entre os diferentes perfis cromatográficos obtidos por CLAE-DAD para as espécies *P. actinia*, *P. alata* (representados pelas amostras 2.1 e 2.2), *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. cincinnata*, *P. edulis* f. *flavicarpa* (6.2 e 6.1) e *P. edulis* f. *edulis* (7.1). Picos identificados por coinjeção com padrão. verde: isoorientina; roxo: orientina; rosa: vitexina; azul: isovitexina.

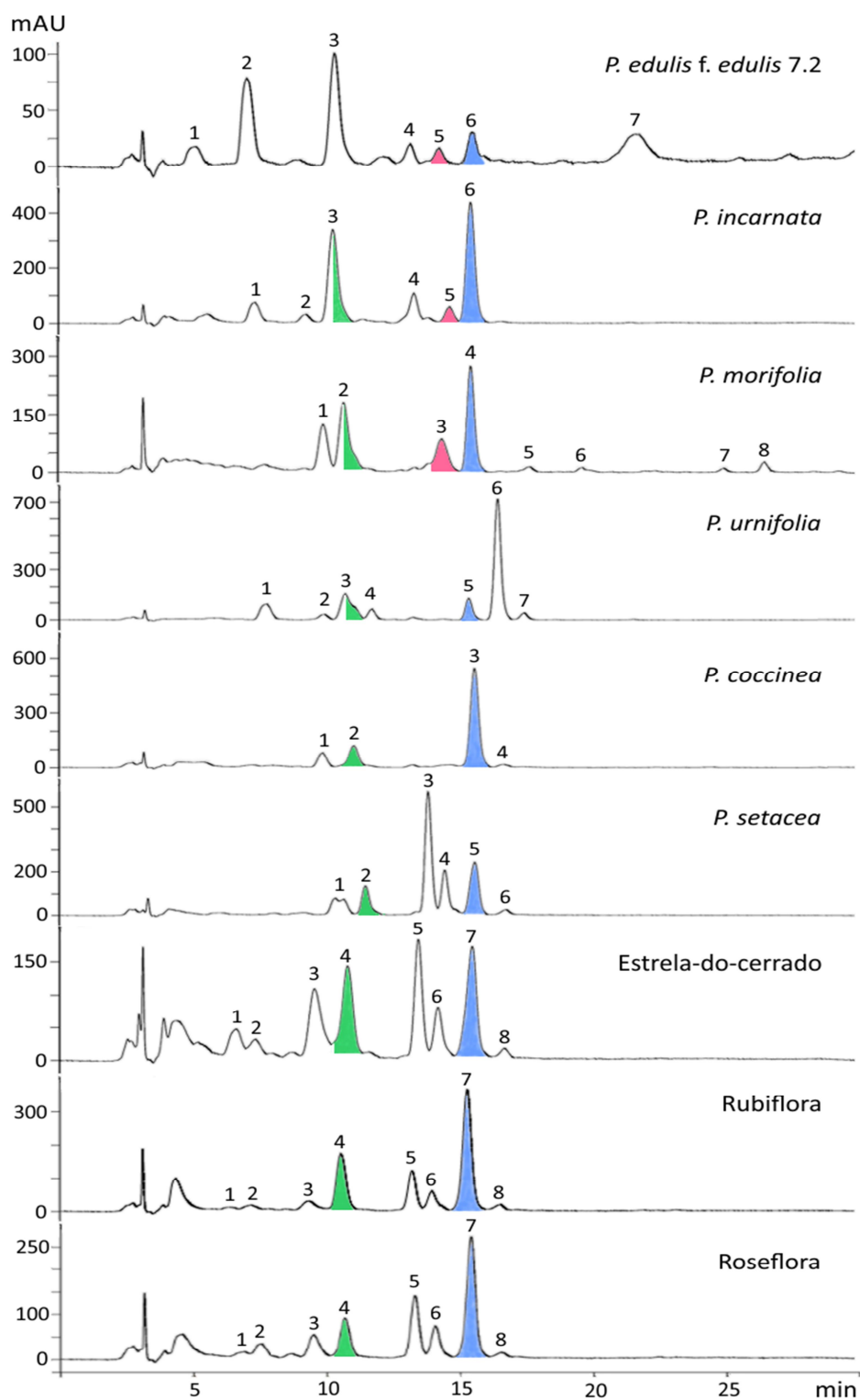


Figura 31. Comparação entre os diferentes perfis cromatográficos obtidos por CLAE-DAD para as espécies *P. edulis f. edulis* (7.2), *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. urnifolia*, *P. coccinea*, *P. setacea* e para os híbridos Estrela-do-cerrado, Rubiflora e Roseflora. Picos identificados por coinjeção com padrão. verde: isoorientina; roxo: orientina; rosa: vitexina; azul: isovitexina.

5.2.2.3 Análise espectral dos picos

A Tabela 2 apresenta os máximos de absorção dos espectros para cada pico das diferentes amostras analisadas.

Os espectros de absorção no UV dos padrões utilizados e seus valores de absorção máxima são mostrados na Figura 32.

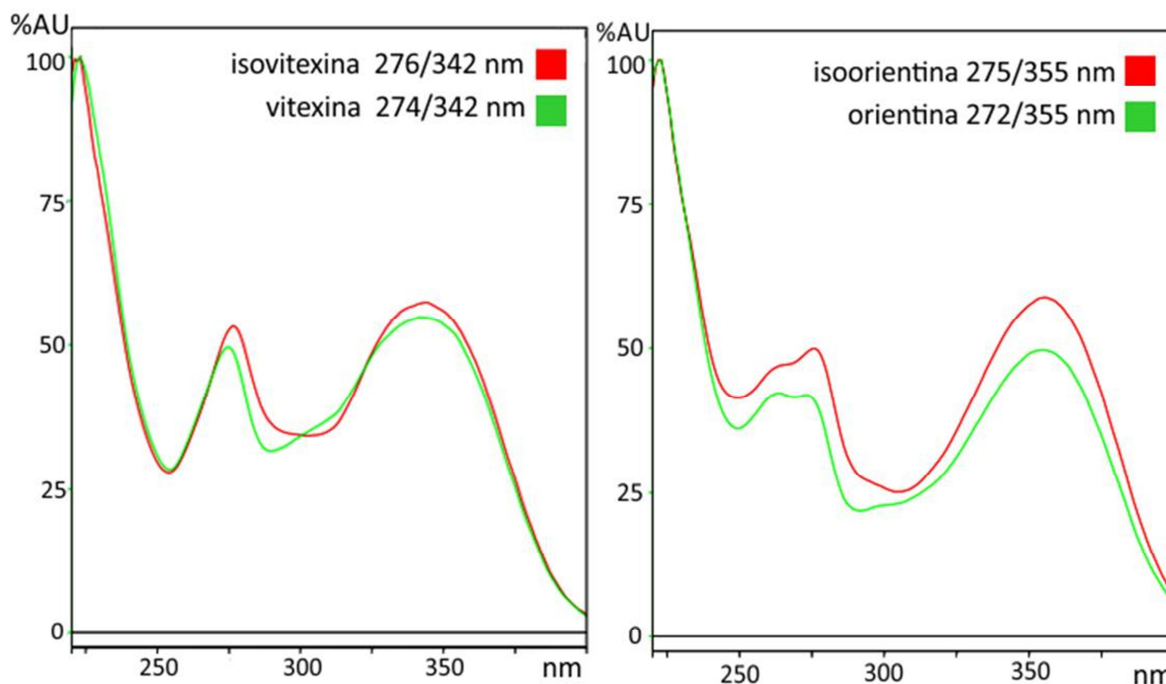


Figura 32. Espectros e máximos de absorção dos padrões isovitexina, vitexina, isoorientina e orientina em UV.

Como mostrado na Tabela 2, os espectros dos picos existentes em cada amostra foram obtidos e comparados com os espectros dos padrões, com o objetivo de fornecer uma maior confiabilidade à identidade dos picos, verificar sua pureza e ainda sugerir se os picos não correspondentes aos padrões utilizados são constituídos por substâncias que pertencem à classe dos flavonoides ou não.

Com relação às verificações de pureza dos picos, em todas as amostras que exibiram picos correspondentes à isovitexina, esses se mostraram puros. Da mesma forma, os picos atribuídos à vitexina apresentam espectros com o mesmo perfil de absorção no UV ao longo de todo o pico.

No que diz respeito aos picos relacionados aos padrões de isoorientina e orientina, entretanto, a pureza apresentou variações de acordo com o cromatograma analisado. Em *P. actinia*, o pico 3 relativo à isoorientina, apesar de simétrico, exibiu uma mudança do perfil espectral de 276/348 para 278/341 nm em sua extremidade direita, indicando a falta de pureza do mesmo. O pico 3 de *P. capsularis*, da mesma forma, é constituído por dois espectros distintos, não correspondendo portanto, unicamente à orientina. Aqueles picos identificados como correspondentes somente em parte a um padrão por meio da coinjeção e aqueles que se apresentam assimétricos, foram confirmados como impuros. Por outro lado, os picos

correspondentes à isoorientina de *P. coccinea*, *P. setacea* e dos híbridos são puros de acordo com a verificação realizada. Todos os espectros obtidos em diferentes tempos de retenção para cada um desses picos mostraram-se similares, como pode ser observado para *P. coccinea* na Figura 33.

Tabela 2. Máximos de absorção (nm) exibidos pelos espectros de UV para cada pico apresentado pelas amostras analisadas em CLAE-DAD.

Espécie	Am.	Picos								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>P. actinia</i>	1.1	279/344	276/351	276/348	276/342	277/342	276/342			
<i>P. alata</i>	2.1	274/355	275/343	275/345	278/336	274/355				
	2.2	275/354	274/356	275/345	276/344	274/356				
<i>P. amethystina</i>	3.1	277/344	277/351	277/343	277/342	277/343	276/343	277/343	278/341	278/340
<i>P. capsularis</i>	4.1	335	275/355	320; 275/346	318; 336	276/338	277/338			
<i>P. cincinnata</i>	5	277/336	277/343	277/344; 277/355	273/350; 278/344	276/344	275/343	276/343	273/350	
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	6.2	277/338	277/344; 276/352	279	276/343	277				
	6.1	274/357	273/347							
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	7.1	273/355	274/346	276; 275/343	276	273/345				
	7.2	278/354	277/339	280/339	293	275/349	278/339	274		
<i>P. incarnata</i>	8.1	277/340	277/339	277/341	276/341	274/342	276/343			
<i>P. morifolia</i>	9.1	276/341	277/341	275/345	276/343	275/342	274/352	274/349	270/350	
<i>P. urnifolia</i>	10.1	277/341	276/343	277/342	276/353	276/343	277/342	274/349		
<i>P. coccinea</i>	11	276/340	277/355	276/342	276/355					
<i>P. setacea</i>	12	276/354	275/355	277/343	277/342	276/345	276/349			
Híbridos	13	275/350	277/340	276/346	275/353	277/342	277/340	276/343	275/349	

“/” indica dois valores de absorção de um mesmo espectro. “;” indica valores de absorção de diferentes espectros.
Am. – amostra.

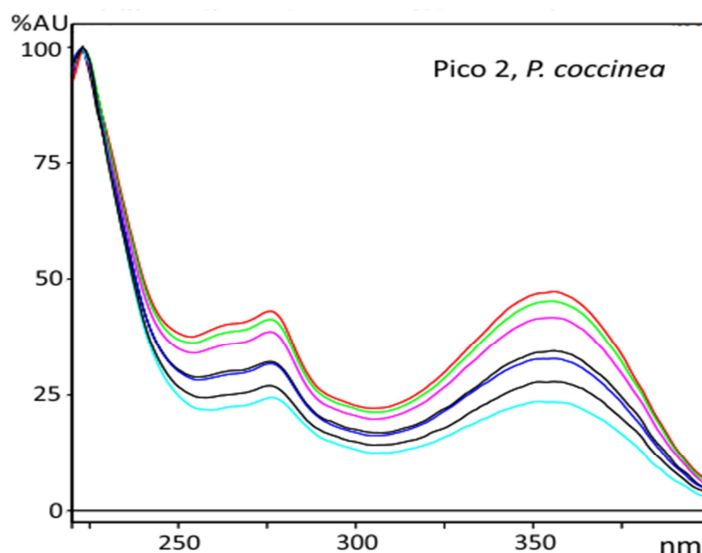


Figura 33. Espectros de absorção no UV obtidos em diferentes regiões do pico 2 (relativo à isoorientina) de *P. coccinea*, para verificação de pureza.

Os picos 1-6 de *P. actinia*, possuem espectros no UV com dois máximos de absorção próximos aos apresentados pelos padrões, o que sugere que correspondam a substâncias que apresentam em sua estrutura o cromóforo característico dos flavonoides.

Todos os picos das amostras correspondentes aos dois perfis apresentados por *P. alata* (representados pelas amostras 2.1 e 2.2) parecem corresponder a flavonoides. O pico 2 da amostra 2.1 mostrou espectro muito similar ao pico 3 (275/343 para o pico 2 e 275/345 para o pico 3), sugerindo tratar-se, portanto, de uma substância com estrutura semelhante à da vitexina.

Todos os picos de *P. amethystina* mostraram-se aparentemente puros e correspondentes a flavonoides. O pico 7, de maior intensidade não identificado, apresenta espectro com máximos em 277/343 nm, valor praticamente idêntico aos encontrados para os picos 5 e 6 (277/343 e 276/343 nm) correspondentes à vitexina e isovitexina, respectivamente.

Por outro lado, os picos 1-4 de *P. capsularis* apresentaram-se impuros. O pico 1 não se trata de um flavonoide por possuir espectro com somente um máximo de absorção em 335 nm. O mesmo ocorre com o pico 4 que apresentou dois espectros, cada um com um máximo de absorção em 318 e 336 nm. O pico 3 está contaminado com uma substância a qual apresenta um espectro com um máximo em 320 nm.

P. cincinnata mostrou todos os picos com espectros relativos a flavonoides.

O pico 3 do perfil representado pela amostra 6.2 de *P. edulis* f. *flavicarpa* mostra somente um máximo em 279 nm, o que não condiz com um flavonoide.

Somente o pico 4 de *P. edulis* f. *edulis* 7.1 apresenta um espectro que se destaca dos demais, com um máximo em 276 nm. O pico 2, apesar de assimétrico, exibe espectros com os mesmos máximos de absorção em 274/346 nm.

Para a amostra 7.2, os picos 4 e 7 possuem somente um máximo de absorção em seus espectros. Quando coinjectada com isoorientina, o pico 3 da amostra 7.2 se dividiu. Como esse

pico apresentou um espectro com absorções em 280/339 nm (relativamente distante dos 275/355 apresentados pelo padrão de isoorientina), provavelmente ele seja correspondente à um flavonoide com tempo de retenção muito próximo à isoorientina.

Todos os picos (numerados na Figura 31) para *P. incarnata*, *P. urnifolia*, *P. coccinea*, *P. setacea* e os três híbridos mostraram dois máximos de absorção com comprimentos de onda semelhantes aos apresentados pelos padrões. Para *P. morifolia* somente o pico 8 não mostrou esse mesmo perfil espectral.

6. DISCUSSÃO

A determinação da autenticidade e qualidade de matérias-primas vegetais utilizadas na formulação de medicamentos fitoterápicos, chás e cosméticos, é essencial no sentido de garantir sua segurança e eficácia para o uso clínico. Dessa maneira, a autenticação é diretamente ligada à efetividade clínica. Casos de toxicidade podem ser relacionados ao consumo de plantas medicinais, como os casos de hepatotoxicidade citados por Pittler e Ernst (2003). Identificações errôneas e adulterações aumentam a probabilidade de ocorrência de tais eventos. Infelizmente, são inúmeros os exemplos de matérias-primas adulteradas intencionalmente ou não por outras espécies de plantas, por vezes morfologicamente semelhantes, de menor valor ou mais facilmente disponíveis (Zhang et al., 2007; Ma et al., 2002; Zhao et al., 2006). Moraes et al. (1997) citam, inclusive, o uso das folhas e caules de *P. edulis*, amplamente cultivada no território nacional, como um adulterante para *P. alata*, a qual foi a única espécie incluída nas três primeiras edições da Farmacopeia Brasileira e, portanto, oficial no país nesta época. Além disso, apesar de somente algumas espécies serem oficiais para uso medicinal, as demais espécies de *Passiflora* são, da mesma maneira, conhecidas popularmente como maracujá, o que reforça a importância do reconhecimento e diferenciação entre as mesmas (Beraldo e Kato, 2010).

A grande maioria dos medicamentos fitoterápicos à base de passiflora é elaborada com a espécie *P. incarnata*, por ser a espécie mais amplamente estudada e inserida em diversos Compêndios Oficiais, como no 3º volume das Monografias da OMS de 2007, Farmacopeia Europeia de 2005, Britânica de 2005, Francesa de 1965, Suíça de 1971, entre outras. Por se tratar de uma espécie nativa da América do Norte (WHO, 2007) e não encontrada no Brasil, as indústrias de fitoterápicos brasileiras muitas vezes necessitam importar a matéria-prima na forma de droga ou extrato. Nesse sentido, a autenticação da espécie por meio dos caracteres macroscópicos da planta como tamanho, formato e coloração de folhas e flores, torna-se inviável. É nesse momento que o uso de outras ferramentas, como a farmacobotânica e a análise cromatográfica adquire caráter indispensável para a realização do controle de qualidade da matéria-prima vegetal.

A farmacobotânica oferece excelentes chaves de identificação e diferenciação entre espécies. Contudo, quando o material vegetal original foi processado, apresentando-se na forma de pó ou quando estão presentes adulterantes com características morfoanatômicas semelhantes, essa ferramenta mostra-se insuficiente para a autenticação da espécie (Sucher e Carles, 2008). Métodos adicionais de identificação, como as análises cromatográficas devem ser, então, empregados para esse fim. Ao se ter em mãos um método de fácil execução e baixo custo, assim como o resultado esperado para determinada análise, o controle de qualidade da matéria-prima vegetal torna-se possível.

6.1 ANÁLISE MORFOANATÔMICA

Os caracteres morfológicos externos das folhas pertencentes às amostras estudadas apresentaram-se condizentes com os encontrados na literatura com algumas poucas variações como o formato do ápice de *P. alata* citado por Cervi (1997) como agudo a emarginado e encontrado como agudo acuminado nas amostras em estudo; citado como mucronado para *P.*

capsularis (Sacramento, 2002) no lugar de agudo e como agudo para *P. amethystina* (Sacramento, 2002) no lugar de obtuso.

O estudo morfoanatômico das espécies permitiu o estabelecimento de caracteres microscópicos de identificação e diferenciação entre as mesmas. Algumas características anatômicas comuns a todas as espécies não são úteis como marcadores de diferenciação, como a organização dorsiventral das folhas, feixes vasculares colaterais e presença de cristais de oxalato de cálcio, mencionadas como comuns ao gênero *Passiflora* (Metcalf e Chalk, 1950). Todas as espécies de *Passiflora* estudadas se enquadraram nessas características comuns. Apesar disso, Dhawan et al. (2004) relatam que as células epidérmicas possuem contorno reto à ondulado para todo o gênero, enquanto foram encontradas diversas espécies apresentando contorno levemente sinuoso a sinuoso das paredes anticlinais da face adaxial da epiderme (*P. actinia*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. incarnata* e *P. morifolia*) e da face abaxial da epiderme (*P. actinia*, *P. amethystina*, *P. capsularis*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. incarnata*, *P. morifolia*, *P. coccinea*, *P. setacea* e os três híbridos).

Por outro lado, a união de outras características morfoanatômicas apresentadas pelas espécies em estudo, mostra-se capaz de auxiliar na identificação e diferenciação entre as mesmas. São elas, principalmente, formato da nervura central e do pecíolo, arranjo dos feixes na nervura central e no pecíolo, formato das nervuras de médio porte, presença/ausência de tricomas tectores e sua descrição e caracteres mais específicos como a presença de papilas na face abaxial da epiderme e de células esclerenquimáticas próximas aos feixes vasculares no limbo foliar. Um resumo dos resultados apresentados para cada espécie no que concerne as características morfoanatômicas principais está apresentado no Quadro 10.

Dhawan et al. (2004) citam que em muitas espécies, a epiderme da folha e caule é caracterizada por protuberâncias cuticulares, sendo um exemplo *Passiflora spinosa* Mast., enquanto que em outras seções essas estruturas possuem somente ocorrência isolada. Também chamadas de papilas, essas estruturas foram encontrada nas regiões internervurais, entre as espécies estudadas, apenas em *P. actinia*. A morfoanatomia das folhas e pecíolo de *P. actinia* já havia sido previamente estudada por Kurtz et al. (2003). Os resultados encontrados nesse estudo prévio coincidem em grande parte com os encontrados neste trabalho. Enquanto Kurtz et al. (2003) encontraram contorno levemente sinuoso para as paredes anticlinais da face adaxial da epiderme e comparativamente mais sinuosas para a face abaxial, encontrou-se contorno ondulado a levemente sinuoso e levemente sinuoso a sinuoso para as faces adaxial e abaxial, respectivamente no presente trabalho. O mesofilo dorsiventral é composto por uma camada de parênquima paliádico e cerca de seis camadas de parênquima lacunoso segundo Kurtz et al. (2003), enquanto 4-6 foram encontradas neste trabalho.

Enquanto esses autores encontraram feixes vasculares de pequeno porte com calota de fibras perivasculares aposta ao floema, calotas esclerenquimáticas foram encontradas neste trabalho apostas ao floema e ao xilema, o que, todavia, não ocorreu em todos os feixes. Kurtz et al. (2003) classificaram os quatro feixes encontrados na nervura central como dispostos em anel, enquanto foram classificados no presente estudo como um arco fletido formado pela fusão de três feixes mais um feixe dorsal. Esses autores relataram a presença de calota de fibras perivasculares aposta ao floema dos feixes vasculares da nervura central, enquanto neste trabalho essas calotas foram vistas, juntamente com células esclerenquimáticas livres próximas ao xilema, sendo que essas características não foram verificadas em todas as amostras analisadas. Kurtz et al. (2003) observaram no pecíolo da espécie cerca de sete feixes vasculares colaterais, dispostos em anel mais dois feixes próximos à face adaxial, enquanto foram vistos

neste trabalho cerca de cinco feixes vasculares livres em arco fletido, um feixe de maior porte localizado dorsalmente e dois feixes laterais.

Com relação às amostras analisadas de *P. alata*, a grande parte dos caracteres morfoanatômicos encontrados corroboram resultados previamente relatados (Farmacopeia, 2010; Pereira et al., 2009; Leite et al., 2013). Foi relatado, entretanto que *P. alata* possui estômatos somente em sua face abaxial (Farmacopeia, 2010; Pereira et al., 2009; Farias, 2014), enquanto que, apesar de raros, foram encontrados estômatos também na face adaxial das amostras analisadas, classificando-a não como hipoestomática, mas como anfiestomática. A literatura apresenta dados discrepantes quanto ao contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas de ambas as faces, sendo que os resultados obtidos no presente trabalho (face adaxial: reto a levemente ondulado e face abaxial: levemente ondulado a ondulado) assemelham-se mais com os apresentados por Pereira et al. (2009) (face adaxial com contorno poligonal a levemente ondulado e face abaxial com contorno ligeiramente ondulado), do que com os relatados pela Farmacopeia (2010) (levemente sinuosas em ambas as faces). Na literatura, o sistema vascular da nervura central é circundado por células esclerenquimáticas (Pereira et al., 2009; Farmacopeia, 2010), as quais também foram observadas, mas não em todas as amostras estudadas neste trabalho.

Os caracteres morfoanatômicos observados para epiderme, limbo foliar, nervura central e pecíolo de *P. capsularis* estão em acordo com os apresentados por Meruvia et al. (1993). As discrepâncias encontradas foram a presença de estômatos também anisocíticos, além dos paracíticos e anomocíticos já relatados; a ausência de aspecto levemente papiloso da face abaxial da epiderme do limbo foliar e a presença alguns estômatos localizados em nível levemente superior às demais células epidérmicas, ao contrário dos estômatos unicamente superficiais relatados. Leite et al. (2013) relata que apenas tricomas tectores unicelulares foram encontrados. Ao contrário, foram observados tricomas tectores unicelulares, bicelulares e multicelulares nas amostras estudadas.

A amostra 4.4 de *P. capsularis* apresentou-se diferente das outras três analisadas quanto à espessura do limbo e ao desenvolvimento do parênquima paliçádico, possuindo limbo mais estreito e células do parênquima paliçádico de tamanho bastante inferior quando comparado às demais, representadas pela amostra 4.2 na Figura 11. Nesse caso, é importante mencionar que a amostra 4.4 foi coletada de uma planta na Mata Atlântica de Guaratuba-PR, que crescia à sombra de árvores e se desenvolvia em sentido vertical, com o objetivo de alcançar o topo da árvore que a servia como suporte, ao contrário dos outros exemplares coletados que cresciam expostos ao sol.

A existência de uma variabilidade morfológica e anatômica de folhas pode ser considerada uma vantagem adaptativa que as permite se desenvolver em ambientes com grandes variações de radiação solar, temperatura e umidade, como observado para *Elaeagnus angustifolia* L. por Klich (2000).

Um exemplo similar ao encontrado para *P. capsularis* foi relatado por Tattini et al. (2000), que estudaram o acúmulo de flavonoides nas folhas e tricomas glandulares de *Phyllirea latifolia* sob duas situações: em plantas que cresceram sob uma densa mata de *Pinus pinea* (plantas de sombra) ou em dunas abertas (plantas de sol). Foi constatado que a espessura total das folhas de sol foi 78% maior que a encontrada para as folhas de sombra, fato substancialmente devido ao maior desenvolvimento de ambos os parênquimas, paliçádico e lacunoso, resultados que vão de acordo com os aqui discutidos.

Do mesmo modo, Pires (2008) observou que *Passiflora morifolia* crescendo a pleno sol e a 25% de sombreamento possui mesofilo mais espesso, constituído por uma camada de parênquima paliádico de células alongadas e praticamente sem espaços intercelulares e por parênquima lacunoso composto por células pequenas, de formato irregular, distribuídas em vastos espaços intercelulares. Por outro lado, nas folhas mantidas sob 50 e 75% de sombreamento houve uma diminuição acentuada do comprimento das células do parênquima paliádico e uma maior compactação do parênquima lacunoso.

Os resultados das pesquisas de Tattini et al. (2000) e de Pires (2008) com diferentes espécies de *Passiflora*, corroboram aqueles obtidos por Jurik et al. (1982), ao estudar o efeito da luz sobre as folhas de *Fragaria virginiana* Duchesne. Foi observado que as folhas das plantas expostas à alta intensidade de radiação luminosa são mais espessas e possuem mesofilo mais desenvolvido quando comparadas às expostas a uma luminosidade inferior.

P. cincinnata, segundo Barbosa et al. (2013), possui células epidérmicas com contorno de suas paredes anticlinais levemente sinuoso. Por outro lado, a amostra analisada possui contorno reto a levemente ondulado na face adaxial e levemente ondulado a ondulado na face abaxial. Assim como o observado nesse trabalho, Barbosa et al. (2013) relatam que *P. cincinnata* apresenta tricomas apenas nas nervuras e Leite et al. (2013) que apenas tricomas tectores unicelulares foram encontrados. Farias (2014) relata ter encontrado tricomas tectores em ambas as faces da epiderme em *P. cincinnata* (a localização e a descrição de tais tricomas não é citada) enquanto nesse trabalho foram observados somente sobre as nervuras de grande porte na face adaxial.

No que concerne às amostras de *P. edulis* analisadas, a grande parte dos caracteres identificados estão de acordo com os mencionados pela literatura, que, por sua vez, não classificam a espécie de acordo com sua forma (Pereira et al., 2009; Beraldo e Kato, 2010; Farmacopeia, 2010; Farias, 2014). Apesar disso, não foram observadas fibras envolvendo o sistema vascular da nervura central como relatado por Pereira et al. (2009). Além dos estômatos anomocíticos a paracíticos mencionados por Pereira et al. (2009) e Beraldo e Kato (2010), também foram observados estômatos anisocíticos, já relatados por Barbosa et al. (2013). Quanto ao contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas, as amostras de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. edulis* f. *edulis* apresentaram resultados distintos, inclusive entre as duas amostras analisadas de *P. edulis* f. *edulis*, apesar disso, os dados existentes na literatura também diferem quanto a esse aspecto. As células da face adaxial da epiderme apresentam contorno poligonal segundo Beraldo e Kato (2010) e Pereira et al. (2009). A face abaxial da epiderme apresenta células com contorno poligonal à ligeiramente ondulado segundo Pereira et al. (2009) e ligeiramente sinuoso de acordo com Beraldo e Kato (2010). Segundo a Farmacopeia (2010) e Barbosa et al. (2013) as paredes anticlinais são levemente sinuosas em ambas as faces. Ao contrário dos 5-6 feixes dispostos em círculo no pecíolo relatados por Beraldo e Kato (2010), foram encontrados 6-9 feixes nas amostras analisadas. De acordo com a literatura, a espécie possui tricomas tectores unicelulares (Pereira et al., 2009; Beraldo e Kato, 2010; Farmacopeia, 2010; Barbosa et al., 2013; Leite et al., 2013), é glabra segundo Farias (2014) e totalmente glabra ou esparsamente vilosa segundo Cervi (1997). Crochemore et al. (2003) não observaram a presença de tricomas nas folhas de *P. edulis* f. *edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa*. A amostra 7.1 de *P. edulis* f. *edulis* apresentou tricomas unicelulares, bicelulares e multicelulares nas regiões nervural e internervural. A amostra 7.2 de *P. edulis* f. *edulis* exibiu tricomas de tamanho inferior e mais esparsos, localizados somente sobre as nervuras de grande porte na face abaxial e sobre a nervura central na face adaxial. As amostras de *P. edulis* f. *flavicarpa* exibiram tricomas muito raros somente sobre a nervura central.

Crochemore et al. (2003) estudaram a diversidade encontrada entre espécies de *Passiflora* por meio de caracteres morfológicos. Foi observada importante variabilidade entre diferentes acessos de *P. edulis* f. *edulis*, do mesmo modo que foi observada importante variabilidade morfoanatômica para *P. edulis* f. *edulis* neste trabalho. Divergências menos significativas foram encontradas entre as amostras da forma *flavicarpa*.

A existência de uma expressiva variabilidade intra- e interespecie no gênero *Passiflora* já foi relatada por Amorim et al. (2014) e atribuída ao grande número de espécies, juntamente com sua ocorrência em ambientes variados. Viana et al. (2003) também relatam que a variabilidade é uma característica do gênero, entretanto à atribui ao fato de que algumas das espécies se cruzam com facilidade.

A diversidade genética, a qual pode estar associada a diversidades morfoanatômicas e químicas, como as observadas nesse trabalho, já foram relatadas especificamente para a espécie *P. edulis*. Bellon et al. (2007) ao utilizar marcadores moleculares RAPD em acessos silvestres e comerciais de maracujazeiro azedo demonstraram alta variabilidade genética, sendo que os acessos com frutos amarelos apresentaram maior distanciamento em relação aos com frutos roxos. Os autores também observaram que acessos de uma mesma origem geográfica exibiram uma maior similaridade, o que pode ser igualmente observado no presente trabalho por meio das análises cromatográficas para as amostras 6.2-6.4 de *P. edulis* f. *flavicarpa*, todas coletadas em Foz do Iguaçu.

Os caracteres encontrados para *P. incarnata* diferem daqueles relatados pela WHO (2007) e por Farias (2014) na classificação da espécie como hipoestomática, já que foram encontrados estômatos, apesar de raros, também na face adaxial das amostras analisadas. Além dos estômatos anomocíticos mencionados pela WHO (2007), foram encontrados também estômatos anisocíticos e paracíticos. Farias (2014) relatou a presença de papilas na face abaxial da epiderme de *P. incarnata*, com projeções que se estendem periclinalmente a partir da região mediana da célula, o que não foi encontrado no presente trabalho.

Barbosa et al. (2013), classifica os estômatos de *P. setacea* como paracíticos ou anisocíticos e o contorno de suas paredes anticlinais como levemente sinuoso. Por outro lado, nas amostras analisadas, foram observados estômatos anomocíticos, anisocíticos e raros paracíticos e contorno das paredes anticlinais reto a levemente ondulado na face adaxial e levemente sinuoso a sinuoso na face abaxial. Farias (2014) relata ter observado somente estômatos do tipo paracíticos. De acordo com Barbosa et al. (2013), a espécie exibe tricomas em abundância por toda sua superfície e é classificada como hipoestomática, dados que estão de acordo com o visualizado nas amostras estudadas. Os demais caracteres morfoanatômicos citados por Farias (2014) estão em acordo com os encontrados neste trabalho.

Como esperado, os híbridos de *P. coccinea* e *P. setacea* estudados, apresentaram características morfoanatômicas semelhantes e intermediárias às encontradas para essas duas espécies.

Determinados caracteres morfoanatômicos puderam ser visualizados por microscopia de luz mesmo após a planta ter sido submetida a processos de secagem e moagem para estabilização e preparo de extratos. Alguns caracteres foram comuns a todas as espécies analisadas, como a presença de drusas, fragmentos de limbo foliar dorsiventral constituído por epiderme uniestratificada em ambas as faces, uma camada de parênquima paliádico e algumas de parênquima lacunoso, colênquima com espessamento angular e fragmentos de tecido vascular. Outros caracteres mudam de acordo com a espécie em questão, são eles o

contorno das paredes celulares anticlinais de fragmentos de epiderme de ambas as faces, a presença ou ausência de tricomas e sua descrição.

P. morifolia e *P. urnifolia*, por exemplo, podem ser diferenciadas das demais espécies de *Passiflora* avaliadas, apenas pelas características específicas apresentadas por seus tricomas.

Apesar de por vezes não permitirem a classificação da droga ao nível de espécie, esses caracteres são úteis para uma avaliação inicial da matéria-prima vegetal. A descrição microscópica do pó, por esse motivo, consta nas diversas monografias presentes em farmacopeias.

6.2 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

O órgão vegetal escolhido para a realização das análises foi a folha. Apesar da droga vegetal de *P. incarnata* ser constituída pelas partes aéreas da planta (WHO, 2007), a Farmacopeia (2010) traz a informação de que as drogas vegetais de *P. edulis* e *P. alata* são constituídas pelas folhas secas das espécies em questão. Além disso, Schilcher (1968) demonstrou que as folhas e flores de *P. incarnata* são semelhantes quanto ao conteúdo de flavonoides totais, enquanto que nos caules esses componentes apresentam-se em quantidade cerca de quatro vezes inferior. Já de acordo com Menghini e Mancini (1988), o órgão vegetal de *P. incarnata* que comporta o maior teor de flavonoides, vitexina (1), isovitexina (4), orientina (5) e isoorientina (2), é a folha, frutos e sementes contêm apenas traços desses constituintes e o caule possui cerca de 1/5 da quantidade presente nas folhas.

A escolha da cromatografia em camada delgada como metodologia a ser empregada no controle de qualidade de matérias-primas vegetais, é baseada no fato da CCD ser a mais simples e a mais econômica das técnicas cromatográficas, quando se pretende obter uma separação rápida e identificação visual. Por esses motivos, aliados à existência de diferentes fases móveis e estacionárias, diferentes técnicas de desenvolvimento e visualização, sua rápida execução, repetitividade e custo não elevado, a CCD está presente em quase todos os laboratórios de química ou biologia (Lopes, 2006).

Foram utilizadas placas de cromatografia em camada delgada de alta eficiência no lugar das placas de CCD convencionais. As placas de CCDAE apresentam partículas de sílica com tamanho médio de 5-6 μm , em comparação com os 10-12 μm usados para a CCD clássica. Isto permite uma maior densidade de empacotamento das partículas e, portanto, uma superfície mais lisa. As bandas de difusão são também reduzidas, o que gera bandas de amostra muito compactas. Estas características e a camada mais fina de sílica presente na placa (200 ou 100 μm) levam ao aumento da sensibilidade e a um maior poder de separação para as mesmas quando comparadas às placas convencionais de CCD (Merck, 2015).

O reagente de Neu, utilizado para a revelação, foi desenvolvido para a detecção de flavonoides, sendo que o comportamento da fluorescência é estrutura dependente (Wagner e Bladt, 1996). Segundo Jork et al. (1990), o reagente é capaz de detectar, além de flavonoides, ácido penicílico, carboidratos (como glucose, frutose, lactose), antocianidinas e ácido hidroxí e metoxicinâmico, sendo que os carboidratos geram bandas azuis claras de fraca fluorescência.

Como pode ser observado no Quadro 13, os dois sistemas eluentes escolhidos apresentaram eficiências semelhantes quando o objetivo está na identificação de substâncias referência nas amostras. Dos quatro padrões empregados (isoorientina, orientina, isovitexina e vitexina), isoorientina e isovitexina foram os mais facilmente identificáveis com as duas técnicas empregadas. Isoorientina e orientina apresentam uma intensa fluorescência de coloração amarela. Isoorientina, portanto, é facilmente visualizada, mesmo quando presente em baixas concentrações.

Wagner e Bladt (1996) caracterizaram o extrato metanólico de *P. incarnata* por CCD com fase móvel constituída por acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético e água (100:11:11:26) e reagente de Neu como revelador. Segundo eles, a espécie é caracterizada por seis a oito bandas amarelas a verdes de flavonoides C-glicosilados entre o início e $R_f \sim 0,65$. Isoorientina corresponde à maior banda ($R_f \sim 0,45$), bandas verdes das substâncias isovitexina e

vitexina, isovitexina-2''-O-glucosídeo ($R_f \sim 0,2$) e bandas adicionais correspondentes à, por exemplo, schaftosídeo (8) são observadas. O sistema eluente 2 empregado é constituído por essa mesma fase móvel com uma pequena adaptação realizada para permitir que as bandas se desenvolvessem mais durante a corrida: a proporção de água foi mudada de 26 para 25. A proporção dos outros constituintes permaneceu inalterada. Foram encontradas 6-7 bandas amarelas à azul. A isoorientina apresentou R_f 0,59, superior aos 0,45 encontrados por Wagner e Bladt (1996). Além de isoorientina, também foi possível visualizar a presença de vitexina e isovitexina.

Quadro 13. Padrões atribuídos à determinada espécie/híbrido por CCD, por meio de fator de retenção e coloração, e em CLAE, por meio de coeluição e absorção no UV.

		CCD SE1	CCD SE2	CLAE
<i>P. actinia</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor,vit, isovit
<i>P. alata</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, orient, vit, isovit
<i>P. amethystina</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor,vit, isovit
<i>P. capsularis</i>		isoor	isoor, orient	isoor, orient, vit, isovit
<i>P. cincinnata</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor,vit, isovit
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	7.1	vit	vit, orient	isoor, vit
	7.2	isovit		vit, isovit
<i>P. incarnata</i>		isoor,vit, isovit	isoor,vit, isovit	isoor,vit, isovit
<i>P. morifolia</i>		isoor,vit, isovit	isoor,vit, isovit	isoor,vit, isovit
<i>P. urnifolia</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit
<i>P. coccinea</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit
<i>P. setacea</i>		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit
Estrela-do-cerrado		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit
Rubiflora		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit
Roseflora		isoor, isovit	isoor, isovit	isoor, isovit

isoor – isoorientina; orient – orientina; vit – vitexina; isovit – isovitexina. SE1 – sistema eluente 1; SE2 – sistema eluente 2.

Com ambas as fases móveis, orientina e isovitexina apresentaram fatores de retenção muito próximos, gerando uma só banda quando uma mistura dos quatro padrões foi eluída (dados não apresentados). As bandas, as quais sugeriu serem correspondentes à isovitexina, podem, portanto, corresponder a ambas: isovitexina e orientina. Como pode ser observado por meio das análises em CLAE (Figuras 30 e 31), as únicas espécies em que se pode observar com alguma certeza a presença de orientina foram *P. alata* e *P. capsularis*. *P. alata*, que apresenta ambas: isovitexina e orientina em intensidades similares (Figura 30), possui uma banda com R_f 0,57 no sistema eluente 1 (R_f isovitexina 0,57, orientina 0,60) e R_f 0,66 no sistema eluente 2 (R_f isovitexina 0,66, orientina 0,68), que deve conter as duas substâncias. *P. capsularis*, por outro lado, apresenta um pico correspondente à orientina com intensidade bastante superior ao pico identificado como isovitexina (Figura 30). No sistema eluente 2, uma banda de coloração amarela com R_f 0,70 (R_f orientina 0,68) pode ser claramente atribuída à orientina, o que, por outro lado, não ocorre no sistema eluente 1.

A presença de vitexina pode ser sugerida nas amostras de *P. incarnata* e *P. morifolia* com o emprego de ambas as fases móveis, sendo igualmente visualizada por meio da técnica de

CLAE-DAD. Contudo, vitexina também foi identificada nas amostras de *P. actinia* e *P. alata* por co-injeção e pela similaridade entre os espectros UV (Padrão vitexina = 274/342 nm; pico 5 de *P. actinia* = 277/342 nm; pico 3 de *P. alata* = 275/345 nm). A banda correspondente à vitexina não pode, entretanto, ser observada nas análises em CCD para essas duas espécies.

Muller et al. (2005), ao analisar extratos das folhas de *Passiflora alata* e *P. incarnata* por CLAE-DAD (coluna C18, fase móvel gradiente: ACN, MeOH e CH₃COOH 0,5%), identificaram isovitexina em *P. alata* e *P. incarnata*, mas somente traços de vitexina, a qual, como pode ser visto na Figura 34, foi eluída após a isovitexina. No mesmo trabalho, orientina e swertisina (marcadores em *P. incarnata*), hiperosídeo, rutina, hesperidina e ácido clorogênico não puderam ser identificados em *P. alata*.

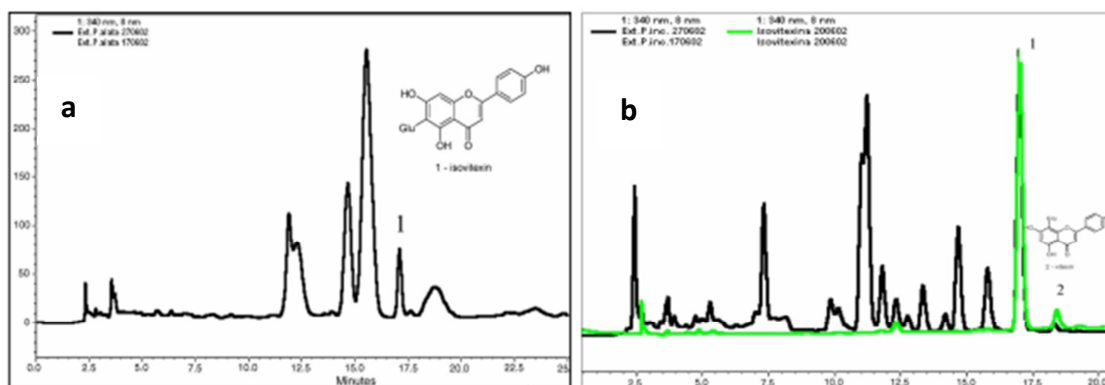


Figura 34. Perfis cromatográficos de *P. alata* (a) e *P. incarnata* (b), detecção a 340 nm. 1 – isovitexina, 2 – vitexina (Muller et al., 2005).

O cromatograma obtido por Muller et al. (2005) para *P. alata* é muito semelhante ao obtido nesse trabalho para as amostras 2.1 e 2.4, mudando somente as intensidades dos picos 2 e 3 (Figura 30).

O perfil obtido para a fração *n*-butanólica das folhas de *P. alata* por Madoglio (2011) é semelhante ao observado para as amostras 2.2, 2.3 e 2.5 no presente trabalho, e está apresentado na Figura 35. Como pode ser observado, os dois primeiros picos do cromatograma correspondem aos dois primeiros exibidos para a amostra 2.2 e foram, da mesma forma, identificados como isoorientina e orientina. O pico majoritário visto na Figura 35, corresponderia ao pico 3 da amostra 2.2, o qual foi coeluído com o padrão de vitexina. Madoglio (2011) o identifica como vitexina-2''-*O*-ramnosídeo e o pico 4 como isovitexina. O pico 3 da amostra 2.2 possui absorção no UV em 275/345 nm, valor próximo ao apresentado pelo padrão vitexina: 274/342 nm. Nesse caso, é possível que a vitexina apresente o mesmo tempo de retenção que a vitexina-2''-*O*-ramnosídeo no método utilizado e que, nesse caso, a coeluição dê uma falsa impressão de que o pico corresponda à vitexina ou unicamente à mesma.

Costa (2013) e Zucolotto et al. (2012) também identificaram o flavonoide vitexina-2''-*O*-ramnosídeo como sendo o constituinte majoritário do extrato das folhas de *P. alata*. Além desse flavonoide, foram identificados orientina, isovitexina (Costa, 2013; Zucolotto et al., 2012) e isoorientina (Zucolotto et al., 2012).

Apesar de não identificada por Madoglio (2011) e Costa (2013), vitexina (juntamente com orientina, isovitexina, isoorientina e rutina) já foi identificada em *P. alata* diversas vezes (Freitas, 1985; Oga et al., 1984; Moraes et al., 1997; Muller et al., 2005).

2''-O-Ramnosil-escoparina e 2''-O-ramnosil-orientina são flavonoides que também já foram relatados para o extrato aquoso das folhas de *P. alata* (Doyama et al., 2005) e podem vir a fazer parte de algum dos picos contidos nos cromatogramas das amostras de *P. alata*.

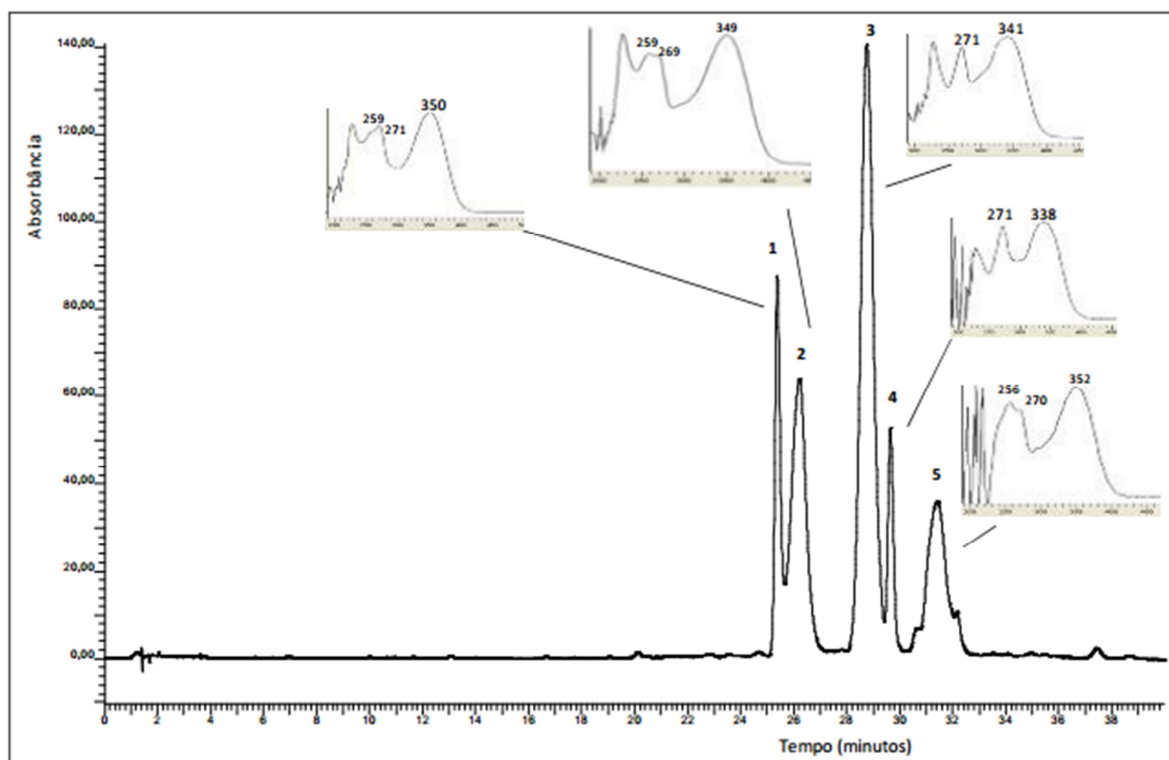


Figura 35. Cromatograma por CLAE da fração *n*-BuOH das folhas de *P. alata* com detecção UV/DAD em $\lambda = 340$ nm (Madoglio, 2011).

Os exemplares 2.2, 2.3 e 2.5 de *P. alata* apresentaram um perfil distinto das amostras 2.1 e 2.4. Esses três exemplares exibiram um pico a menos (pico 2 da amostra 2.1, imediatamente anterior ao pico que coeluiu com vitexina), sendo que em 2.2, 2.3 e 2.5 o pico 3 está presente em uma intensidade bastante superior quando comparadas às amostras 2.1 e 2.4 (Figura 30).

Diversidades entre diferentes amostras de *P. alata* já foram anteriormente relatadas. Meletti et al. (2003) observaram variabilidade em caracteres morfológicos e agrônômicos em diferentes acessos de *P. alata*. Bellon et al. (2009) estudaram a variabilidade genética de dezessete acessos de maracujá-doce, com base em marcadores moleculares RAPD. A realização de uma análise de agrupamento com base nas distâncias genéticas subdividiu os dezessete acessos de *P. alata* em, pelo menos, cinco grupos de similaridade genética, sendo que os oito acessos silvestres foram os que mais contribuíram para a ampliação da base genética dos materiais estudados. Os mesmos autores relataram que espécies silvestres de maracujazeiro possuem ampla diversidade genética e que se esperava que dentro da espécie *P. alata*

houvesse grande variabilidade de alelos, em função da sua ampla distribuição geográfica, com acessos encontrados em várias condições ambientais.

A variabilidade genética já bem documentada pode estar relacionada a uma diversidade na constituição química de diferentes acessos de *P. alata*. A constatação de diferenças qualitativas entre as amostras aporta, para as indústrias que fabricam diferentes produtos com uso medicinal à base de *P. alata*, uma importante informação. É necessária a padronização da droga vegetal ou extrato empregado com base na constituição química do mesmo, já que diferentes composições químicas podem resultar em diferentes eficiências terapêuticas.

É importante ressaltar que não foram observadas diferenças quanto aos caracteres morfoanatômicos entre as amostras analisadas de *P. alata*.

O sistema eluente 2 empregado em CCD, apesar de permitir a comparação entre as espécies e a detecção das discrepâncias entre as amostras tanto quanto o sistema eluente 1, mostrou a vantagem de exibir bandas mais definidas, o que permite a visualização de um maior número de bandas e, conseqüentemente, torna mais fácil a comparação entre os perfis.

No que diz respeito à distinção entre as diferentes espécies de *Passiflora* estudadas, fica evidente quando se observa as placas cromatográficas obtidas, assim como os Quadros 11 e 12, que ambos os sistemas eluentes empregados permitiram a obtenção de um perfil diferente para cada espécie, e que, portanto, a CCD sob tais condições pode ser empregada como método para o controle de qualidade de drogas e extratos de folhas de *Passiflora*.

Costa (2013) também chegou à essa conclusão utilizando a mesma fase móvel e revelador empregados no Sistema eluente 1 (acetato de etila, acetona, ácido acético e água 6:2:1:1 e Reagente de Neu), entretanto, para um número menor de espécies: *P. tripartita* var. *mollissima*, *P. bogotensis*, *P. quadrangularis* e *P. alata*. A metodologia empregada para os extratos aquosos brutos das folhas permitiu, segundo o autor, a observação de várias substâncias com características de flavonoides C-glicosilados, devido às suas polaridades e colorações após revelação. A comparação dos perfis obtidos com padrões permitiu que o autor sugerisse a presença de isoorientina, orientina, swertisina e vitexina em *P. tripartita* var. *mollissima*, isoorientina e isovitexina em *P. bogotensis*, vitexina em *P. quadrangularis* e 2''-O-ramnosil-vitexina em *P. alata*.

A mesma metodologia foi empregada por Madoglio (2011) para as frações butanólica e acetato de etila do extrato etanólico das folhas e frutos de *P. alata*. O sistema utilizado foi, também nesse caso, eficiente em apresentar diferenças nos perfis cromatográficos das diferentes amostras analisadas.

Gosmann et al. (2011) também utilizaram o sistema eluente 1 para comparar por CCD os extratos hidroetanólicos das partes aéreas das seguintes espécies de *Passiflora*: *P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. caerulea*, *P. capsularis*, *P. edulis* Sims var. *flavicarpa*, *P. elegans*, *P. foetida*, *P. misera*, *P. morifolia*, *P. organensis*, *P. suberosa*, *P. tenuifolia* e *P. urnifolia*. Os autores relatam terem observado características importantes para os extratos. *P. suberosa* pode ser diferenciada por uma mancha azulada que não está presente em outras espécies e *P. alata* possui duas manchas principais amarelo-laranjadas. *P. amethystina* e *P. misera* apresentam manchas pálidas. *P. organensis*/*P. actinia*, e *P. caerulea*/*P. edulis* foram semelhantes entre si. *P. alata* e *P. edulis* possuem perfis cromatográficos diferentes. As placas cromatográficas obtidas por Gosmann et al. (2011), apresentadas na Figura 2, capítulo 3, quando comparadas às obtidas com o uso do mesma fase móvel e revelador neste trabalho, apresentam um número inferior de bandas e de menor resolução, dificultando a comparação entre as espécies.

A técnica de cromatografia a líquido de alta eficiência empregada, do mesmo modo que a CCD, atingiu o objetivo proposto de estabelecer perfis característicos entre as espécies. As mesmas diferenças qualitativas observadas entre as amostras pela CCD, foram detectadas por CLAE. Essas diferenças foram observadas para as espécies *P. alata* (já discutida anteriormente), *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. edulis* f. *edulis*.

Fica evidente ao observar os cromatogramas apresentados nas Figuras 26 e 27, que existem diferenças químicas significativas entre as duas formas de *P. edulis*, mas também entre as amostras de uma mesma forma.

Zucolotto et al. (2012) também estudaram os perfis cromatográficos das duas formas de *P. edulis*. A constituição de flavonoides glicosilados das folhas das duas formas foi avaliada por CLAE-DAD, por meio de um método isocrático de eluição dos solventes A (tetrahydrofurano, isopropanol, acetonitrila) e B (ácido fosfórico) e por CLAE-EM com um gradiente (água, acetonitrila e ácido fórmico). Os perfis obtidos por CLAE-DAD para *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. edulis* f. *edulis* são apresentados nas Figuras 36 e 37, respectivamente. Em *P. edulis* f. *flavicarpa* vicenina-2 (9) e isoorientina foram identificados como majoritários (picos 1 e 4 no cromatograma da Figura 36), também foram identificados 6,8-di-C-glicosilcrisina (pico 2 da Figura 36), espinosina, orientina (pico 8 da Figura 36), isovitexina (pico 6 da Figura 36) e vitexina (pico 9 da Figura 36). Em *P. edulis* f. *edulis* nenhuma dessas substâncias foram detectadas.

Como pode-se observar, o cromatograma de *P. edulis* f. *flavicarpa* assemelha-se muito mais com as amostras 6.2-6.4 do que com a amostra 6.1, diferente das demais (Figura 26). Da mesma forma, o cromatograma apresentado para *P. edulis* f. *edulis* possui maior semelhança com o obtido para a amostra 7.1 do que com a amostra 7.2 (Figura 27).

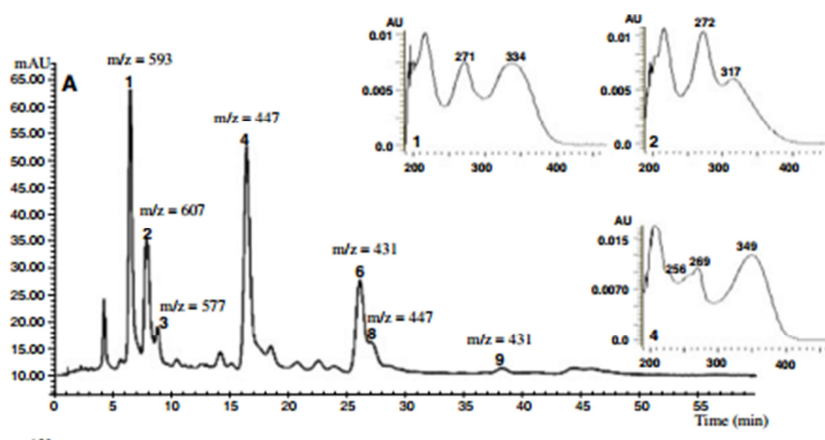


Figura 36. Cromatograma do extrato das folhas de *P. edulis* f. *flavicarpa* por CLAE-DAD, método isocrático de eluição dos solventes A (tetrahydrofurano, isopropanol, acetonitrila) e B (ácido fosfórico), detecção 340 nm (Zucolotto et al., 2012).

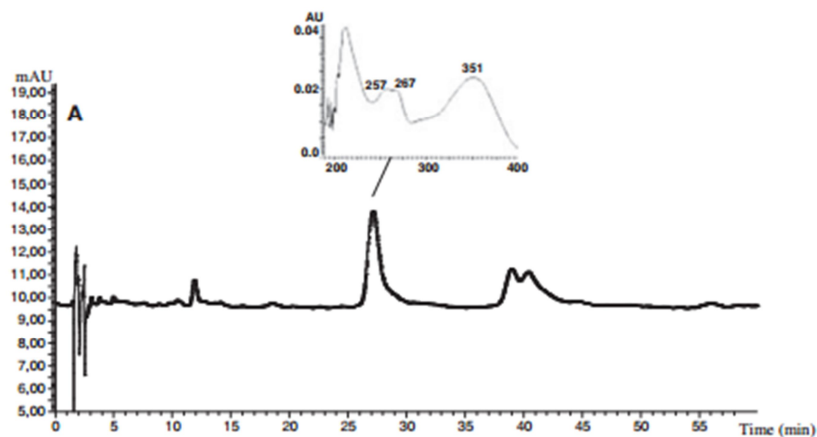


Figura 37. Cromatograma do extrato das folhas de *P. edulis* f. *edulis* por CLAE-DAD, método isocrático de eluição dos solventes A (tetrahidrofurano, isopropanol, acetonitrila) e B (ácido fosfórico), detecção 340 nm (Zucolotto et al., 2012).

Zucolotto et al. (2012) afirmaram que os resultados obtidos para as duas formas de *P. edulis* sugerem que há uma grande diversidade de composição química inter e intra-formas.

Além disso, Viana et al. (2003) estudaram a variabilidade genética existente entre *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. edulis* f. *edulis*, agrupando as duas formas separadamente. Tal constatação sugere a existência de considerável diversidade genética entre as mesmas e contraria a hipótese de que o maracujá amarelo seria uma mutação do maracujá roxo ou um híbrido natural entre o maracujá roxo e *P. ligularis*.

Esses resultados, junto com os obtidos no presente trabalho, indicam a importância da identificação da forma da espécie, bem como da caracterização e padronização química das drogas vegetais e extratos de *P. edulis* que farão parte da constituição de chás, fitoterápicos ou cosméticos, tendo em vista que a concentração e a composição das substâncias fenólicas possui correlação com a atividade biológica (Colomeu et al., 2014).

Além das diferenças qualitativas já mencionadas, diferenças quantitativas podem ser visualizadas ao avaliar as Figuras 26 e 27. As diferenças mais marcantes são vistas entre a amostra 4.4 de *P. capsularis* e as demais, assim como entre a amostra 8.3 de *P. incarnata* e as outras duas estudadas.

A amostra 4.4 de *P. capsularis* apresentou, conforme pode ser visto na Figura 26, picos com intensidade muito inferior quando comparados aos exibidos pelas amostras 4.1-4.3. Como pode ser mais claramente observado na Figura 38, a composição qualitativa do exemplar 4.4 é muito semelhante à apresentada pelos demais.

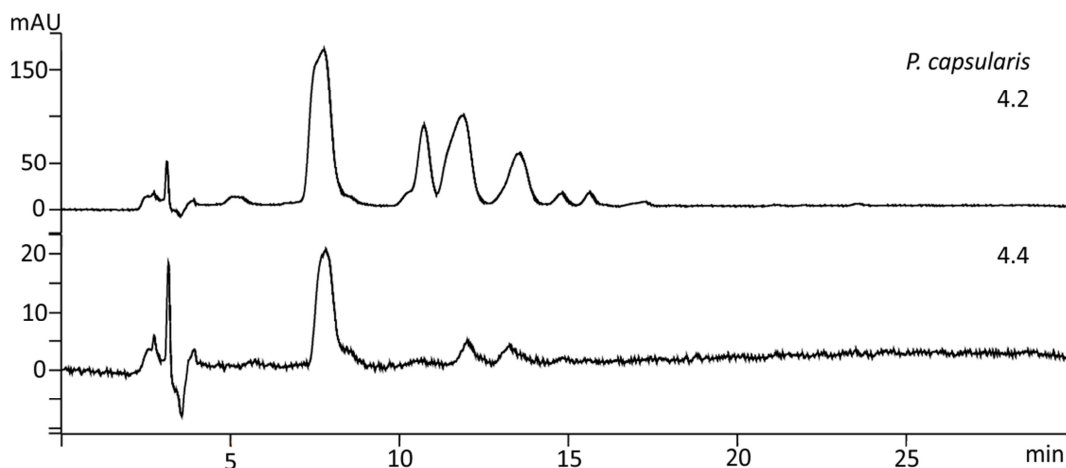


Figura 38. Comparação entre o perfil em CLAE-DAD da amostra 4.4 de *P. capsularis* com a amostra 4.2, representando as demais. Detecção: 340 nm.

Essa diferença quantitativa foi associada a uma diferença morfoanatômica já mencionada entre as espécies. A amostra 4.4 apresentou limbo foliar com espessura inferior e parênquima paliádico menos desenvolvido quando comparado às outras amostras de *P. capsularis*. Como já descrito, a amostra 4.4 foi retirada de uma planta coletada na Mata Atlântica de Guaratuba-PR, que crescia à sombra de árvores e se desenvolvia em sentido vertical, com o objetivo de alcançar o topo da árvore que a servia como suporte.

Tattini et al. (2000), além de relatar as mesmas diferenças morfoanatômicas observadas para *P. capsularis*, para a espécie *Phyllirea latifolia* em plantas que cresceram sob uma densa mata de *Pinus pinea* (plantas de sombra) ou em dunas abertas (plantas de sol), estudaram o acúmulo de flavonoides nas folhas e tricomas glandulares dessa espécie sob tais condições. Foi relatado que a concentração, mas não a composição (assim como observado nesse trabalho para *P. capsularis*), dos fenilpropanoides presentes no tecido foliar variou significativamente entre as folhas de sol e sombra, com um aumento acentuado de flavonoides glicosilados nas folhas de sol.

Essas variações são possíveis no sentido de que as plantas são capazes de adaptar-se a diferentes intensidades de luz, regulando seu estado fisiológico por meio da alteração de suas vias metabólicas primárias e secundárias, e, portanto, de seus processos anabólicos e catabólicos, com o objetivo de alcançar seu estado funcional máximo (Nobel, 1991).

A relação dos flavonoides com a luz solar já foi relatada em diversos casos. A deposição de polifenóis nos tricomas das folhas de *Olea europaea* foi atribuída à proteção das células contra o dano causado pela radiação UV solar (Karabourniotis et al., 1998). Nesse sentido, a propriedade antioxidante dos flavonoides parece agir de forma a proteger o metabolismo celular dos danos que ocorrem sob estresse severo, causados pelas espécies reativas de oxigênio (Husain et al., 1987). Dessa maneira, a habilidade dos flavonoides em filtrar os comprimentos de onda da luz UV, enquanto mantém o fluxo da radiação ativa fotossinteticamente (400-700 nm) normal, diminui a fotoinibição da fotossíntese em plantas expostas à radiação solar em combinação a outros estresses ambientais (Björkman e Demmig-Adams, 1995).

O caso de *P. incarnata* é diferente. A amostra 8.3 corresponde a um extrato seco cedido por uma indústria de fitoterápicos local. Apesar de ter sido pesado e reextraído da mesma

maneira que todas as demais amostras, a intensidade dos picos apresentados em seu cromatograma, assim como a intensidade de coloração das bandas em CCD, demonstram que sua concentração de flavonoides é inferior à das amostras 8.1 e 8.2 (*P. incarnata* coletada em Vera Cruz do Oeste-PR) (Figura 27). Da mesma forma, Silva et al. (2013) detectaram problemas na qualidade de extratos comerciais. Os autores testaram a eficácia, no que diz respeito à proteção de fibroblastos contra os efeitos dos raios UV, de cinco extratos comerciais de chá verde utilizados para enriquecer formulações cosméticas, comparados à um extrato fluido preparado segundo as recomendações da Farmacopeia Brasileira. Os teores de EGCG dos extratos comerciais variaram de indetectáveis a $58,65 \pm 1,12 \mu\text{g/ml}$, enquanto o extrato fluido apresentou um teor de $87,82 \pm 1,35 \mu\text{g/ml}$. Além disso, somente o extrato preparado segundo a Farmacopeia apresentou uma atividade antioxidante significativa. Fica evidente, dessa maneira, a necessidade da aplicação de um controle de qualidade mais rigoroso para os extratos comerciais, que contemple a determinação não somente qualitativa, mas também quantitativa de seus marcadores químicos. A importância da padronização qualitativa e quantitativa dos flavonoides presentes na droga ou extrato apoia-se no fato de que os flavonoides identificados em preparações de *P. incarnata*, como vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina, devem contribuir para a atividade da droga (Menghini e Mancini, 1988).

As demais variações nas intensidades dos picos entre as amostras de uma mesma espécie foram de caráter menos significativo, como as observadas para *P. actinia*, entre as amostras 2.2, 2.3 e 2.5 de *P. alata*, entre as amostras 6.2-6.4 de *P. edulis* f. *flavicarpa* e para *P. morifolia* (Figuras 26 e 27). Tais diferenças podem ser devidas aos fatores ambientais aos quais a planta estava sujeita, à época do ano em que a coleta foi realizada ou ao estágio de desenvolvimento da planta. Muller et al. (2005) relacionaram a variação sazonal com o conteúdo de flavonoides de *P. alata*. Foi observada uma significativa redução no teor de isovitexina e de flavonoides totais nas folhas de *P. alata* coletadas no inverno quando comparadas àquelas coletadas no verão. Assim como observado para as amostras desse trabalho acima citadas, o perfil cromatográfico qualitativo entre as amostras de Muller et al. (2005) não foi alterado. Já Menghini e Mancini (1988), demonstraram que o teor de flavonoides das partes aéreas de *P. incarnata* varia de acordo com o estágio de desenvolvimento da planta. Essas substâncias começam a ser acumuladas no estágio de plântula, aumentam durante a fase de crescimento vegetativo e atingem um máximo no período da floração. O pico do teor de flavonoides é atingido quando as plantas entram em fase reprodutiva.

De acordo com as análises por CLAE-DAD, a espécie *P. coccinea* possui um perfil cujo pico majoritário é correspondente à isovitexina e outro, de baixa intensidade, à isoorientina. Sakalem et al. (2012) chegaram a outros resultados ao estudar a composição química dos extratos hidroetanólicos das folhas de *P. coccinea* e outras três espécies do gênero *Passiflora*: *P. vitifolia*, *P. bahiensis* e *P. sidifolia*. Foram identificados no extrato de *P. coccinea* os flavonoides vitexina-7-O-glucosídeo, orientina, apigenina-7-O-diglucosídeo e vitexina, em ordem crescente de tempo de retenção. Além desses flavonoides, também foi observada no extrato a presença de derivados de procianidinas, as quais são constituídas exclusivamente por unidades de catequinas e epicatequinas arranjadas em dímeros à polímeros. As análises foram realizadas por CLAE-DAD e por injeção direta em ESI-EM/EM.

Como teoricamente esperado, os três híbridos de *P. coccinea* e *P. setacea* estudados realmente apresentaram perfis em CCD e CLAE-DAD intermediários aos dessas duas espécies, como pode ser observado nas Figuras 19, 23 e 27.

Cada espécie de *Passiflora* analisada exibiu um perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico de suas folhas distinto, tendo sido possível sugerir uma correlação entre algumas bandas em CCD e alguns picos em CLAE-DAD, com os flavonoides C-glicosilados isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina. Esses flavonoides podem, portanto, ser usados no controle de qualidade de matérias-primas vegetais como marcadores químicos para a autenticação ou diferenciação entre espécies, por meio das metodologias propostas.

7. CONCLUSÕES

A avaliação dos caracteres morfoanatômicos de drogas vegetais derivadas de *Passiflora*, como demonstrado, contribui para a diagnose das espécies. Alguns desses caracteres destacaram-se sobre os demais no sentido de auxiliar na diferenciação entre as espécies de *Passiflora* analisadas. Foram eles:

- contorno das paredes anticlinais das faces adaxial e abaxial das epidermes: retas, onduladas ou sinuosas;
- formato da nervura central: biconvexo com especificidades nas diferentes espécies ou plano-convexo;
- formato do pecíolo: o qual variou de plano-convexo, côncavo-convexo à praticamente circular;
- arranjo dos feixes na nervura central e no pecíolo: apresentando variações no número e disposição, podendo apresentar-se como um único feixe ou como feixes livres em forma de anel, arco fletido ou arco fechado;
- formato das nervuras de médio porte: plano, plano-convexo, biconvexo ou côncavo-convexo;
- presença/ausência de tricomas tectores e sua descrição: *P. actinia*, *P. alata* e *P. amethystina* glabras, as demais pubescentes com variações no tipo de tricoma, quantidade e localização;
- presença de papilas na face abaxial da epiderme: encontradas na região internervural unicamente em *P. actinia* e nas nervuras de médio porte em *P. coccinea*, *P. setacea* e os três híbridos analisados;
- características das células esclerenquimáticas presentes no limbo foliar: arrançadas de um modo singular em *P. urnifolia*, como um feixe de células situado no centro dos feixes vasculares de pequeno porte.

Apesar disso, as variações qualitativas e quantitativas observadas nos perfis cromatográficos dos diferentes acessos, demonstraram que a farmacobotânica não deve ser utilizada isoladamente para o controle de qualidade de matérias-primas vegetais derivadas de *Passiflora*. As variações qualitativas encontradas em *P. alata* e *P. edulis* demonstram a necessidade de padronização de um perfil químico desejado, que deve ser atendido por todos os diferentes fornecedores de matéria-prima vegetal das indústrias que fabricam medicamentos fitoterápicos à base de *Passiflora*.

Do mesmo modo, ficou claro que as duas formas de *P. edulis* (*P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. edulis* f. *edulis*) são distintas quimicamente, o que indica a necessidade de identificação em nível de forma, além de padronização química, para uso terapêutico.

A diferença quantitativa encontrada entre as amostras de *P. capsularis* reforça a necessidade de padronização das condições de cultivo e controle de qualidade químico para as passifloras destinadas ao uso terapêutico.

8. REFERÊNCIAS

- Akhondzadeh, S., Naghavi, H.R., Vazirian, M., Shayeganpour, A., Rashidi, H., Khani, M., 2001a. Passionflower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. *J. Clin. Pharm. Ther.* 26, 363-367.
- Akhondzadeh, S., Kashani, L., Mobasri, M., Hosseini, S.H., Nikzad, S., Khani, M., 2001b. Passionflower in the treatment of opiates withdrawal: a double-blind randomized controlled trial. *J. Clin. Pharm. Ther.* 26, 369-373.
- Akhondzadeh, S., Mohammadi, M.R., Momeni, F., 2005. *Passiflora incarnata* in the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Therapy* 2, 609-614.
- Anvisa, 2011. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. Brasília: Anvisa.
- Amorim, J.S., Souza, M.M., Viana, A.J.C., Corrêa, R.X., Araújo, I.S., Ahnert, D., 2014. Cytogenetic, molecular and morphological characterization of *Passiflora capsularis* L. and *Passiflora rubra* L. *Plant Syst. Evol.* 300, 1147-1162.
- APG II, 2003. Na update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Lin. Soc.* 141, 399-436.
- Avula, B., Wanga, Y.H., Rumalla, C.S., Smillie, T.J., Khan, I.A., 2012. Simultaneous determination of alkaloids and flavonoids from aerial parts of *Passiflora* species and dietary supplements using UPLC-UV-MS and HPTLC. *Nat. Prod. Commun.* 7, 1177-1180.
- Azevedo, M.A.M., 2008. Análise da valoração dos impactos ambientais e da demanda de fitoterápicos oriundos do maracujá no Brasil. *Rev. FAE* 11, 19-32.
- Barbosa, P.R., Valvassori, S.S., Bordignon, C.L.J., Kappel, V.D., Martins, M.R., Gavioli, E.C., Quevedo, J., Reginatto, F.H., 2008. The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. *J. Med. Food* 11, 282-288.
- Barbosa, N.C.S., Barbosa, C.J., Leite, K.R.B., da Silva, L.B., 2013. Anatomia das superfícies foliares de espécies de *Passiflora* (Passifloraceae) como subsídio para estudos agrônômicos. 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte, Brasil.
- Bellon, G., Faleiro, F.G., Junqueira, K.P., Junqueira, N.T.V., Santos, E.C., Braga, M.F., Guimarães, C.T., 2007. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims. com base em marcadores RAPD. *Rev. Bras. Frutic.* 29, 124-127.
- Bellon, G., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Junqueira, K.P., Junqueira, N.T.V., Fonseca, K.G., Braga, M.F., 2009. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores RAPD. *Rev. Bras. Frutic.* 31, 197-202.
- Bellon, G., Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Fuhrmann E., Almeida, B.C., Villela, J.G.A., 2012. Variabilidade genética de genótipos elite de maracujazeiro obtidos em programas de retrocruzamento envolvendo espécies silvestres e comerciais com base em marcadores RAPD. XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura, Bento Gonçalves-RS, Brasil.
- Benincá, J.P., Montanher, A.B., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P., Fröde, T.S., 2007. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. *Food Chem.* 104, 1097-1105.
- Beraldo, J., Kato, E.T.M., 2010. Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20, 233-239.
- Bezerra, J.A., Campos, A.C., Vasconcelos, P.R., Nicareta, J.R., Ribeiro, E.R., Sebastiao, A.P., Urdiales, A.I., Moreira, M., Borges, A.M., 2006. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônica em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. *Acta Cir. Bras.* 21, 16-25.

- Björkman, O., Demmig-Adams, B., 1995. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In Schulze, E.D., Caldwell, M.M., (org.) *Ecophysiology of photosynthesis*. Berlin: Springer Verlag, p. 17-47.
- Bokstaller, S., Schmidt, P.C., 1997. A comparative study of the content of passionflower flavonoids and sesquiterpenes from valerian root extracts in pharmaceutical preparations by HPLC. *Pharmazie* 52, 552-557.
- Bombardelli, E., Bonatti, A., Gabetta, B., Martinelli, E.M., Mustich, G., 1975. Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis*. *Phytochemistry* 14, 2661-2665.
- Cervi, A.C., 1981. Revisão do gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) do Estado do Paraná, Brasil. Barcelona, 241p. Tese de Doutorado, Universidade de Barcelona.
- Cervi, A.C., 1986. Passifloraceae. Flora do Estado de Goiás Coleção Rizzo. Goiânia: Ed. da Universidade Federal de Goiás.
- Cervi, A.C., 1997. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. *Fontqueria* 45, 1-92.
- Cervi, A.C., Dunański Junior, A., 2004. Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L. Subgênero *Distephana* (Juss.) Killip. *Revista Estudos de Biologia* 26, 45-67.
- Coleta, M., Batista, M.T., Campos, M.G., Carvalho, R., Cotrim, M.D., Lima, T.C., Cunha, A.P., 2006. Neuropharmacological evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. *Phytother. Res.* 20, 1067-1073.
- Colomeu, T.C., Figueiredo, D., Cazarin, C.B.B., Schumacher, N.S.G., Maróstica Jr., M.R., Meletti, L.M.M., Zollner, R.L., 2014. Antioxidant and anti-diabetic potential of *Passiflora alata* Curtis aqueous leaves extract in type 1 diabetes mellitus (NOD-mice). *Int. Immunopharmacol.* 18, 106-115.
- Conrado, D.J., Fronza, T., Paiva, R.M., Dresch, A.P., Geremias, D., Fenner, R., Viana, A.F., Rates, S.M.K., 2003. Aspectos químicos, farmacológicos e emprego terapêutico do gênero *Passiflora* (Maracujá). *Rev. Afargos* 15, 14-19.
- Costa, A.M., Tupinambá, D.D., 2005. In Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V, Braga, M.F. (ed.) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa dos Cerrados, p.475.
- Costa, G.M., 2013. Estudo químico de espécies brasileiras e colombianas do gênero *Passiflora*. Florianópolis, 291p. Tese de doutorado, Centro De Ciências da Saúde, Programa De Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Crochemore, M.L., Molinari, H.B., Stenzel, N.M.C., 2003. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). *Rev. Bras. Frutic.* 25, 5-10.
- Da Silva, J.R.S., Campos, A.C.L., Ferreira, L.M., Aranha-Junior, A.A., Thiede, A., Zago-Filho, L.A., Bertoli, L.C., Ferreira, M., Trubian, P.S., Freitas, A.C.T., 2006. Efeito do extrato da *Passiflora edulis* na cicatrização de gastrorrafias em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. *Acta Cir. Bras.* 21, 50-58.
- De Candolle, A.P., 1828. Passifloreae. *Prodr. Syst. Nat.* 3, 321-338.
- De Mello, F.B., Langeloh, A., De Mello, J.R.B., 2007. Study of the toxicity and efficacy in wistar rats of a phytoterapic used as sedative and/or anxiolytic. *Lat. Am. J. Pharm.* 26, 191-200.
- De Paris, F., Petry, R.D., Reginatto, F.H., Gosmann, G., Quevedo, J., Salgueiro, J.B., Kapczinski, F., Ortega, G., Schenkel, E.P., 2002. Pharmacochemical study of aqueous extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. *Acta Farm. Bonaer.* 21, 5-8.
- Deginani, N.B., 2001. Las espécies argentinas do gênero *Passiflora* (Passifloraceae). *Darwiniana* 39, 43-129.
- Deng, J., Zhou, Y., Bai, M., Li, H., Li, L., 2010. Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *J. Ethnopharmacol.* 128, 148-153.

- Dhawan, K., Kumar, S., Sharma, A., 2001a. Comparative biological activity study on *Passiflora incarnata* and *P. edulis*. *Fitoterapia* 72, 698-702.
- Dhawan, K., Kumar, S., Sharma, A., 2001b. Anxiolytic activity of aerial and underground parts of *Passiflora incarnata*. *Fitoterapia* 72, 922-926.
- Dhawan, K., Kumar, S., Sharma, A., 2001c. Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus. *J. Ethnopharmacol.* 78, 165-170.
- Dhawan, K., Kumar, S., Sharma, A., 2002. Antitussive activity of the methanol extract of *Passiflora incarnata* leaves. *Fitoterapia* 73, 397-399.
- Dhawan, K., Kumar, S., Sharma, A., 2004. *Passiflora*: a review update. *J. Ethnopharmacol.* 94, 1-23.
- Doyama, J.T., Rodrigues, H.G., Novelli, E.L.B., Cereda, E., Vilegas, W., 2005. Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. *J. Ethnopharmacol.* 96, 371-374.
- Elsas, S.M., Rossi, D.J., Raber, J., White, G., Seeley, C.A., Gregory, W.L., Mohr, C., Pfankuch, T., Soumyanath, A., 2010. *Passiflora incarnata* L. (Passionflower) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and anticonvulsant effects in vivo, varying with extraction method. *Phytomedicine* 17, 940-949.
- Escobar, L.K., 1988. Passifloraceae. In Pinto, P., Lozano, G. (eds.) *Flora de Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, p. 138.
- Farias, V., 2014. Anatomia foliar de *Passiflora* L. (Passifloraceae): aspectos taxonômicos e evolutivos. Curitiba, 63p. Dissertação de mestrado, Programa de pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná.
- Farmacopeia Brasileira, 1977. 3. ed. São Paulo: Andrei.
- Farmacopeia Brasileira, 2010. 5. ed. Brasília: Copyright.
- Feder, N., O'Brien, T.P., 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *Am. J. Bot.* 55, 123-142.
- Fenner, R., 2006. Avaliação do efeito hipnótico/sedativo e ansiolítico de um extrato seco nebulizado de *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae). Porto Alegre, 105p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Ferreres, F., Sousa, C., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Gil-Izquierdo, A., 2007. New C-deoxyhexosyl flavones and antioxidant properties of *Passiflora edulis* leaf extract. *J. Agric. Food Chem.* 55, 10187-10193.
- Fiss, E., Guelere Paris, E., De Castro Brandão, D., Ghorayeb, N., 2006. *Passiflora*, *Crataegus* and *Erythrina* combination efficacy and tolerability clinical evaluation compared to *Passiflora*, *Crataegus* and *Salix* combination in the treatment of patients suffering from insomnia and mild anxiety. *Rev. Bras. Med.* 63, 489-496.
- Freitas, P.C.D., 1985. Estudo farmacognóstico comparativo de espécies brasileiras do gênero *Passiflora* L. São Paulo, 133p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- García, M.T.A., Hoc, O.S., 1998. Aspects of floral biology and reproductive system of *Passiflora mooreana* (Passifloraceae). *Darwiniana* 35, 9-27.
- Gomes, C.S., Campos, A.C.L., Torres, O.J.M., Vasconcelos, P.R.L., Moreira, A.T.R., Tenório, S.B., Tâmbara, E.M., Sakata, K., Júnior, H.M., Ferrer, A.L.S., 2006. Efeito do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização da parede abdominal de ratos: estudo morfológico e tensiométrico. *Acta Cir. Bras.* 21, 7-14.
- Gosmann, G., Provensi, G., Comunello, L.N., Rates, S.M.K., 2011. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Rev. Bras. Bioci.* 9, 88-99.

- Grundmann, O., Wang, J., McGregor, G.P., Butterweck, V., 2008. Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnata* extract is mediated via the GABAergic system. *Planta Med.* 74, 1769-1773.
- Hansen, A.K., Gilbert, L.E., Simpson, B.B., Downie, S.R., Cervi, A.C., Jansen, R.K., 2006. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. *Syst. Bot.* 31, 138-150.
- Harborne, J.B., Baxter, H., 1995. *Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants*. London: Taylor & Francis.
- Hoehne, F.C., 1939. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais: coletânea de 114 aulas primeiramente publicadas em "O Estado de S. Paulo" de 1934-38. São Paulo: Departamento de Botânica do Estado.
- Husain, S.R., Gillard, J., Gillard, P., 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 29, 2489-2491.
- IBGE, 2011. Brasil em números. Brazil in figures. http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2/bn_2013_v21.pdf, acesso mar 2014.
- Ichimura, T., Yomanaka, A., Ichiba, T., Toyokawa, T., Kamada, Y., Tamamura, T., Maruyama, S., 2006. Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70, 718-721.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*. New York: Mc Graw Hill Book.
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W., Wimmer, H., 1990. *Thin-layer chromatography. Reagents and detection methods. Physical and chemical detection methods: fundamentals, reagents I*. Alemanha: VCH Verlagsgesellschaft.
- Jurik, T.W., Chabot, J.F., Chabot, B.F., 1982. Effects of light and nutrients on leaf size, CO₂ exchange, and anatomy in wild strawberry (*Fragaria virginiana*). *Plant Physiol.* 70, 1044-1048.
- Kaiser, E., 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Bot. Zentralb.* 1880, 25-26.
- Karabourniotis, G., Kofidis, G., Fasseas, C., Liakoura, V., Drossopoulos, I., 1998. Polyphenol deposition in leaf hairs of *Olea europaea* (Oleaceae) and *Quercus ilex* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 85, 1007-1012.
- Killip, E.P., 1938. *The American species of Passifloraceae*. Chicago: Field Museum Press.
- Klich, M.G., 2000. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environ. Exp. Bot.* 44, 171-183.
- Koschnitzke, C., 1993. Morfologia e biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). São Paulo, 81p. Dissertação de mestrado, Instituto de Biologia, Unicamp.
- Kraus, J.E., Arduin, M., 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR.
- Kurtz, S.M.T.F., Santos, C.A.M., Duarte, M.R., Sato, M.E.O., 2003. Morfo-anatomia de folhas de maracujá: *Passiflora actinia* Hooker, Passifloraceae. *Acta Farm. Bonaer.* 22, 105-112.
- Leite, S.S.M.S., França, E.S., Coffani-Nunes, J.V., 2013. Morfoanatomia de folha e pecíolo e sua aplicação taxonômica em *Passiflora* (Passifloraceae). 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte, Brasil.
- Lolli, L.F., Sato, C.M., Romanini, C.V., Villas-Boas, L.B., Santos, C.A.M., De Oliveira, R.M.W., 2006. Possible involvement of GABA-A benzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by *Passiflora actinia* extracts in mice. *J. Ethnopharmacol.* 111, 308-314.
- Lopes, J.L.C., 2006. Cromatografia em camada delgada. In Collins, C.H., Braga, G.L., Bonato, P.S. (org.) *Fundamentos de cromatografia*. Campinas: Editora da Unicamp, p. 67-85.

- Lutowski, J., Malek, B., 1975. Pharmakochemische untersuchungen von drogen der gattung *Passiflora* L. Mitteilung: Phytochemische forschung der drogen aus *Passiflora edulis* Sims. forma *flavicarpa*. Planta Med. 27, 222-225.
- Lutowski, J., Malek, B., 1976. Phytochemical studies of drugs from *Passiflora edulis* Sims. forma *flavicarpa*. Herba Hungarica 15, 7-11.
- Ma, X.Q., Shi, Q., Duan, J.A, Dong, T.T.X., Tsim, K.W.K., 2002. Chemical analysis of *Radix Astragali* (Huangqi) in China: A comparison with its adulterants and seasonal variations. J. Agric. Food Chem. 50, 4861-4866.
- MacDougal, J.M., 1994. Revision of the *Passiflora* subgenus *Decaloba*, Section *Pseudodysosmia* (Systematic Botany Monographs). Laramie: Amer Society of Plant Taxonomists.
- Madoglio, F.A. 2011. Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Passiflora alata* Curtis. Florianópolis, 219p. Dissertação de Mestrado, Programa De Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Mahady, G.B., Pendland, S.L., Stoaia, A., Hamil, F.A., Fabricant, D., Dietz, B.M., Chadwick, L.R., 2005. *In vitro* susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used for the treatment of gastrointestinal disorders. Phytother. Res. 19, 988-991.
- Mareck, U., Herrmann, K., Galensa, R., Wray, V., 1991. The 6-C-chinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from *Passiflora edulis*. Phytochemistry 30, 3486-3487.
- Masters, M.T., 1872. Passifloraceae. In Martius, C.F.P., Eichler, A.G., Urban, I. (ed.) Flora brasiliensis. Lipsiae: Frid. Fleischer, p. 527-628.
- Meletti, L.M.M., Bernacci, L.C., Soares-Scott, M.D., Azevedo Filho, J.A., Martins, A.L.M., 2003. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). Rev. Bras. Frutic. 25, 275-278.
- Menghini, A., Mancini, L.A., 1988. TLC determination of flavonoid accumulation in clonal population of *Passiflora incarnata* L. Pharmacol. Res. Commun. 20, 113-116.
- Merck, 2015. Fast and precise Thin Layer Chromatography by Merck Millipore. http://www.emdmillipore.com/PT/en/product/HPTLC-silica-gel-60,MDA_CHEM105547#overview, acesso jan 2015.
- Meruvia, M.Y.L., Palacios, V., Cervi, C.A., 1993. Anatomia foliar de *Passiflora capsularis* L. (Passifloraceae). Acta Biol. Par. 22, 31-44.
- Metcalfe, C.R., Chalk, L., 1950. Dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Baumgratz, J.F.A., 2004. *Passiflora* L. subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na região sudeste do Brasil. Rodriguesia 85, 17-54.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Baumgratz, J.F.A, Gonçalves-Esteves, V., 2012. A taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae) in Brazil. Phytotaxa 53, 1-68.
- Miyasaka, L., Atallah, A., Soares, B., 2009. *Passiflora* for anxiety disorder. Cochrane Database Syst. Rev. 24, CD004518.
- Montanher, A.B., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P., Fröde, T.S., 2007. Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. J. Ethnopharmacol. 109, 281-288.
- Moraes, M.L.L., 1995. Extração e análise de flavonoides em espécies brasileiras de *Passiflora* L. São Carlos, 94p. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- Moraes, M.L.L., Vilegas, J.H.Y., Lanças, F.M., 1997. Supercritical fluid extraction of glycosylated flavonoids from *Passiflora* leaves. Phytochem. Anal. 8, 257-260.
- Movafegh, A., Alizadeh, R., Hajimohamadi, F., Esfehiani, F., Nejatfar, M., 2008. Preoperative oral *Passiflora incarnata* reduces anxiety in ambulatory surgery patients: a double-blind, placebo-controlled study. J. Med. Food 11, 282-288.

- Muller, S.D., Vasconcelos, S.B., Coelho, M., Biavatti, M.W., 2005. LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves. J. Pharm. Biomed. Anal. 37, 399-403.
- Muschner, V.C., Lorenz, A.P., Cervi, A.C., Bonatto, S.L., Souza-Chies, T.T., Salzano, F.M., Freitas, L.B., 2003. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). Am. J. Bot. 90, 1229-1238.
- Nassiri-Asl, M., Shariati-Rad, S., Zamansoltani, F., 2007. Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors. BMC Comp. Alt. Med. 7, 26-31.
- Noriega, P., de Freitas Mafud, D., Strasser, M., Kato, E.T.M., Bacchi, E.M., 2011. *Passiflora alata* Curtis: a Brazilian medicinal plant. Bol. Lat. Caribe Plantas Med. Aromat. 10, 398-413.
- Nobel, P.S., 1991. Physicochemical and environmental plant physiology. New York: Academic Press.
- Nunes, T.S., 2002. A família Passifloraceae no estado da Bahia, Brasil. Feira de Santana, 168p. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- Oga, S., Freitas, P.C., Silva, A.C.G., Hanada, S., 1984. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. Planta Med. 50, 303-306.
- Parafitt, K., 1999. Martindale: The complete drug reference. London: Pharmaceutical Press.
- Patel, S.S., Soni, H., Mishra, K., Singhai, A.K., 2011. Recent updates on the genus *Passiflora*: A review. Int. J. Res. Phytochem. Pharmacol. 1, 1-16.
- Pereira, C.A., Yariwake, J.H., Lanças, F.M., Wauters, J.N., Tits, M., Angenot, L., 2004. A HPLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. Phytochem. Analysis 15, 241-248.
- Pereira, C.A.M., Vilegas, J.H.Y., 2000. Constituintes químicos e farmacologia do gênero *Passiflora* com ênfase a *P. alata* Dryander., *P. edulis* Sims e *P. incarnata* L. Planta Med. 3, 1-12.
- Pereira, C.S., Kurita, H., Veja, R., Jiménez, M., Molinas, C., Benítez, F., 2009. Evaluación de la morfo-anatomía foliar de *Passiflora alata* Curtis y *Passiflora edulis* Sims. Steviana 1, 38-45.
- Pérez, J.O., d'Eeckenbrugge, G.C., Restrepo, M., Jarvis, A., Salazar, M., Caetano, C., 2007. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an update list for conservation. Biota Colombiana 8, 1-45.
- Perfeito, J.P.S., 2012. O registro sanitário de medicamentos fitoterápicos no Brasil: uma avaliação da situação atual e das razões de indeferimento. Brasília, 162p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.
- Petry, R.D., Reginatto, F.H., De-Paris, F., Gosmann, G., Salgueiro, J.B., Quevedo, J., Kapczinski, F., González Ortega, G., Schenkel, E.P., 2001. Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. Phytother. Res. 15, 162-164.
- Pio-Correa, M., 1909. Flora do Brasil. Algumas plantas úteis, suas aplicações e distribuição geográfica. Rio de Janeiro, Typographia da Estatística.
- Pires, M.V., 2008. Respostas morfo-fisiológicas de espécies ornamentais de *Passiflora* ao sombreamento. Ilhéus, 99p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual de Santa Cruz.
- Pittler, M.H., Ernst, E., 2003. Hepatotoxic events associated with herbal medicinal products. Aliment. Pharm. Therap. 18, 451-471.
- Provensi, G., 2007. Investigação da atividade ansiolítica de *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae). Porto Alegre, 135p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Qimin, L., Heuvel, V.D., Delorenzo, O., Corthout, J., Pieters, L.A.C., Vlietinck, A.J., Claeys, M., 1991. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). J. Chromatogr. 562, 435-446.
- Quercia, V., Turchetto, L., Pierini, N., Cuzzo, V., Percaccio, G., 1978. Identification and determination of vitexin and isovitexin in *Passiflora incarnata* extracts. J. Chromatogr. 161, 396-402.
- Reginatto, F.H., Kauffmann, C., Schripsema, J., Guillaume, D., Gosmann, G., Schenkel, E.P., 2001. Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. J. Braz. Chem. Soc. 12, 32-36.
- Reginatto, F.H., De Paris, F., Petry, R.D., Quevedo, J., Ortega, G.G., Gosmann, G., Schenkel, E.P., 2006. Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two South Brazilian *Passiflora* species. Phytother. Res. 20, 348-351.
- Robbers, J.E., Speedie, M.K., Tyler, V.E., 1996. Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. Michigan: Copyright Williams & Wilkins.
- Romanini, V., Wesz Machado, M., Weber Biavatti, M., De Oliveira, R.M.W., 2006. Evaluation of anxiolytic and antidepressant activities in mice with fluid extracts and aqueous fraction obtained from the leaves of *Passiflora alata*. Acta Scient. 28, 159-164.
- Rudnicki, M., Oliveira, M.R., Pereira, T.V., Reginatto, F.H., Dal-Pizzol, F., Moreira, J.C.F., 2007a. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. Food Chem. 100, 719-724.
- Rudnicki, M., Silveira, M.M., Pereira, T.V., Oliveira, M.R., Reginatto, F.H., Dal-Pizzol, F., Moreira, J.C.F., 2007b. Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats. Food Chem. Toxicol. 45, 665-661.
- Sacramento, N.T., 2002. Família Passifloraceae no Estado da Bahia, Brasil. Feira de Santana, 168p. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- Santos, K.C., Santos, C.A.M., De Oliveira, R.M.W., 2005. *Passiflora actinia* Hooker extracts and fractions induce catalepsy in mice. J. Ethnopharmacol. 100, 306-309.
- Sakalem, M.E., Negri, G., Tabach, R., 2012. Chemical composition of hydroethanolic extracts from five species of the *Passiflora* genus. Rev. Bras. Farmacogn. 22, 1219-1232.
- Schenkel, E.P., Gosmann, G., Athayde, M.L., 2011. Saponinas. In Simões, C.M.O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p. 711-740.
- Schilcher, H., 1968. Zur kenntnis der flavon C-glykoside in *Passiflora incarnata* L. Zeitschrift-fur-Naturforsch. B 23, 1393.
- Schmidt, G., Full, G., Winterhalter, P., Schreier, P., 1995. Synthesis and enantiodifferentiation of isomeric 3,5,6,8a-tetrahydro-2,5,5,8a-tetramethyl-2H-1-benzopyrans (edulans I e III). J. Agric. Food Chem. 43, 185-188.
- Sena, L.M., Zucolotto, S.M., Reginatto, F.H., Schenkel, E.P., De Lima, T.C., 2009. Neuropharmacological activity of the pericarp of *Passiflora edulis flavicarpa* degener: putative involvement of C-glycosylflavonoids. Exp. Biol. Med. 234, 967-975.
- Shariati-Rad, S., Nassiri-Asl, M., Zamansoltani, F., 2007. Anticonvulsant effects of Pasipay (prepared from passion flower) by PTZ model in the mice. J. Med. Plant. 6, 40-45.
- Silva, A.R., Seidl, C., Furusho, A.S., Boeno, M.M.S, Dieamant, G.C., Weffort-Santos, A.M., 2013. *In vitro* evaluation of the efficacy of commercial green tea extracts in UV protection. Int. J. Cosmetic Sci. 35, 69-77.
- Silvério, A., 2009. Aspectos embriológicos de espécies do gênero *Passiflora* (Passifloraceae), com ênfase no potencial de herança organelar. Porto Alegre, 131p. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Souza, J.S.I., Meletti, L.M.M., 1997. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ.

- Speroni, E., Minghetti, A., 1988. Neuropharmacological activity of extract from *Passiflora incarnata*. *Planta Med.* 54, 488-491.
- Speroni, E., Billi, R., Mercati, V., Boncompagni, E., Toja, E., 1996. Sedative effects of crude extract of *Passiflora incarnata* after oral administration. *Phytother. Res.* 10, 92-94.
- Sucher, N.J., Carles, M.C., 2008. Genome-based approaches to the authentication of medicinal plants. *Planta Med.* 74, 603-623.
- Talcott, S.T., Percival, S.S., Pittet-Moore, J., Celoria, C., 2003. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *J. Agric. Food Chem.* 51, 935-941.
- Tangarife, M.M.M., Caetano, C.M., Tique, C.A.P., 2009. Caracterización morfológica de espécies Del género *Passiflora* de Colombia. *Acta Agronom.* 58, 117-125.
- Tattini, M., Gravano, E., Pinelli, P., Mulinacci, N., Romani, A., 2000. Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. *New Phytol.* 148, 69-77.
- Tropicos, 2015. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org/Name/24200150>, acesso Mai 2015.
- Ulmer, T., MacDougal, J.M., 2004. *Passiflora: Passionflowers of the World*. Portland: Timber Press.
- Ulubelen, A., Oksuz, S., Mabry, T.J., Dellamonica, G., Chopin, J., 1982. C-glycosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia mannii*. *J. Nat. Prod.* 45, 783.
- Vargas, A.J., Geremias, D.S., Provensi, G., Fornari, P.E., Reginatto, F.H., Gosmann, G., Schenkel, E.P., Fröde, T.S., 2007. *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* spray-dried aqueous extracts inhibit inflammation in mouse model of pleurisy. *Fitoterapia* 78, 112-119.
- Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Souza, M.M., Maldonado, J.F.M., do Amaral Júnior, A.T., 2003. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. *Rev. Bras. Frutic.* 25, 489-493.
- Wagner, H., Bladt, S., 1996. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- WHO, 2007. WHO monographs on selected medicinal plants, vol. 3. WHO Pres: Espanha.
- Yoshikawa, K., Katsuta, S., Mizumori, J., Arihara, S., 2000a. Four cycloartane triterpenoids and six related saponins from *Passiflora edulis*. *J. Nat. Prod.* 63, 1229-1234.
- Yoshikawa, K., Katsuta, S., Mizumori, J., Arihara, S., 2000b. New cycloartane triterpenoids from *Passiflora edulis*. *J. Nat. Prod.* 63, 1377-1380.
- Zhang, Y.B., Shaw, P.C., Sze, C.W., Wang, Z.T., Tong, Y., 2007. Molecular authentication of Chinese herbal materials. *J. Food Drug Anal.* 15, 1-9.
- Zhao, Z., Hu, Y., Liang, Z., Yuen, J.P., Jiang, Z., Leung, K.S., 2006. Authentication is fundamental for standardization of Chinese medicines. *Planta Med.* 72, 865-874.
- Zucolotto, S.M., Fagundes, C., Reginatto, F.H., Ramos, F.A., Castellanos, I., Duque, C., Schenkel, E.P., 2012. Analysis of C-glycosyl flavonoids from South American *Passiflora* species by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Phytochem. Anal.* 23, 232-239.